

Genetische, entwicklungsphysiologische
und morphogenetische Untersuchungen
an der Mutante „spermatheca“ (spt)
von *Drosophila melanogaster*

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich

von

Hans Graber

von Zürich und Großdietwil (Luz.)

Begutachtet von

Professor Dr. E. Hadorn

1949

Curriculum vitae.

Ich wurde am 22. August 1914 als Sohn von Johann Graber und der Helene Graber, geb. Moulin, in Zürich geboren. Hier besuchte ich die Primar- und Sekundarschule und anschließend das Lehrerseminar in Küsnacht. Nach bestandenen Primarlehrerexamen unterrichtete ich von 1934—1938 an einer Zweiklassenschule im Zürcher Oberland. Vom Frühjahr 1938 bis Herbst 1939 weilte ich in Frankreich. Während zwei Trimestern war ich an der „Faculté des sciences“ der Sorbonne in Paris immatrikuliert. Zwei Monate durfte ich mit der gütigen Erlaubnis von Prof. Dr. CHATTON, Paris, an der Marinen Station von Banyuls s. M. arbeiten. In die Schweiz zurückgekehrt, immatrikulierte ich mich nach einem Jahr Aktivdienst an der Universität Zürich. Im Herbst 1942 erwarb ich das Sekundarlehrerpatent. Eine Erweiterung der Studien brachte eine zweisemestrige Assistenzzeit am Zoologischen Institut der Universität Zürich. Seit dem Frühjahr 1944 bin ich gewählter Lehrer an der Sekundarschule der Stadt Zürich.

Meine Lehrer waren die Dozenten:

In Zoologie: PEREZ, TEISSIER, PRENANT (Paris), STROHL, HADORN, STEINER.

In Botanik: GUILLERMOND, BLARINGHEM (Paris), DÄNIKER, A. ERNST, M. ERNST- SCHWARZENBACH, C. ZOLLIKOFE, SCHMID, SCHÄPPI.

In Geologie: STAUB.

In Chemie: KARRER, NÄGELI.

In Mathematik: FUETER.





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Zoologisch-vergleichend anatomischen Institut der Universität Zürich¹.

GENETISCHE, ENTWICKLUNGSPHYSIOLOGISCHE
UND MORPHOGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DER MUTANTE
„SPERMATHECA“ (SPT) VON *DROSOPHILA MELANOGASTER*.

Von
HANS GRABER.

Mit 14 Textabbildungen.
(Eingegangen am 19. Februar 1949.)

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
I. Einführung	106
II. Genetische Untersuchungen	107
1. Züchtung eines neuen Stammes <i>spt</i>	107
2. Charakterisierung der Mutante <i>spt</i>	108
3. Ein Faktor oder mehrere?	109
4. Lokalisation	109
5. Einfluß von Umweltfaktoren auf die Realisation des Genotypus.	111
6. Genische Modifikatoren	113
III. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen	114
1. Temperatursensible Phase	114
2. Transplantationsexperimente	118
IV. Morphogenese	120
1. Vergleich der Entwicklung des Geschlechtsapparates der Mutante <i>spt</i> mit der der Wildform	120
2. Die Morphogenese der getrennten <i>spt</i> -Spermatheken	129
3. Diskussion	131
4. Die Drehung, ein „Rechts-Links-Problem“.	132
Zusammenfassung	133
Literatur	134

I. Einführung.

Bei der Untersuchung eines *Drosophila melanogaster*-Stammes des Zoologisch-vergleichend anatomischen Institutes der Universität Zürich wurden von Prof. E. HADORN Veränderungen am Geschlechtsapparat von *fes lt/fes lt*-Weibchen beobachtet (S. 107). Im Normalfall des Wildstammes erheben sich auf dem Ovidukt-Uterus dorsal und symmetrisch zu dessen Sagittalebene zwei gestielte, pilzförmige Kapseln, die Spermatheken. Die Spermathekengänge münden getrennt voneinander in den Ovidukt-Uterus. Im mutierten Typus findet sich an ihrer Stelle ein unpaarer Ductus. Dieser kann distal in 2 oder 3 Äste aufgespalten oder unverzweigt sein. Im letzteren Falle trägt er dann nur eine, aber meist abnorm große Kapsel. Verzweigt er sich, so sind die auf-sitzenden Kapseln in der Größe stark verschieden, einzelne sogar rudimentär.

¹ Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. HADORN, danke ich herzlich für die Überlassung des Arbeitsthemas und des Materials. Er hat mir durch sein andauerndes Interesse am Fortschreiten der Arbeit und die zahlreichen Ratschläge viel Anregung gegeben.

Es wurde festgestellt (HADORN und GRABER 1944), daß die Temperatur die Morphologie dieser Anhangsorgane modifiziert. Eine vorläufige Untersuchung ergab, daß die Mutation offenbar durch einen rezessiven Erbfaktor bedingt ist, den wir „*spermatheca*“ (Symbol *spt*) nannten.

Da die Mutation sich in verschiedenen Formen manifestiert, stellt sich zunächst die Frage, ob nur ein Gen oder mehrere diese Veränderungen bewirken. Weiter muß festgestellt werden, ob neben der Temperatur auch noch andere Umweltfaktoren den Phänotypus modifizieren.

Eine zweite Problemgruppe ist genphysiologischer Art. Es muß entschieden werden, in welchem Zeitpunkt der Entwicklung die Temperatur in die Reaktionskette vom Gen zum werdenden Merkmal eingreift. In diesen Zusammenhang gehört auch die Frage, ob die imaginale Spermathekenanlage in bezug auf das neue Merkmal sich nach Transplantation autonom oder durch einen neuen Wirtsgenotypus beeinflußbar entwickelt.

Die Morphogenese der veränderten Spermatheken stellt weitere Probleme. In welchem Entwicklungszeitpunkt weicht der *spt*-Phänotypus erstmals sichtbar vom Wildtyp ab? Zeigt die larvale Imaginalanlage schon Veränderungen, oder treten sie erst pupal bei der Ausdifferenzierung der einzelnen Organbereiche auf?

Schließlich sind unsere Untersuchungen an der Mutante *spt* von Interesse in bezug auf die Bedeutung der Spermatheken in den Verwandtschaftsbeziehungen und der Artbildung innerhalb der *Acalyptrae*.

II. Genetische Untersuchungen.

1. Züchtung eines neuen Stammes *spt*.

Die Mutation *spt* trat gekoppelt mit den Genen *fes* und *lt* in Erscheinung. Der neue Faktor liegt also im 2. Chromosom. Der *fes lt spt/Cy*-Stamm¹ ist aber in dieser Kombination für Untersuchungen von *spt* nicht günstig. Deshalb wurde versucht, einen Stamm zu züchten, der im 2. Chromosom *fes* und *lt* nicht mehr enthält. Da *spt* geschlechtsbegrenzt ist und sich zudem an einem inneren Organ manifestiert, der Phänotypus also erst nach Selektion der Tiere erkenntlich ist, konnten die angesetzten Kreuzungen nur an den Nachkommen der 2. oder 3. Generation auf ihre Richtigkeit geprüft werden. Unerwartete Schwierigkeiten brachten die entscheidenden Auskreuzungen, die zum gewünschten Stamm *spt* führen sollten. In der F_1 von $+ lt spt/+ + spt \times + lt spt/+ + spt$ fand sich unter sehr vielen Einzelpaarzuchten nur ein Paar der gewünschten Konstitution: $+ + spt/+ + spt$. Offenbar hatten Fliegen dieses Genotypus mit sehr wenigen Ausnahmen eine bedeutend geringere Vitalität als $+ lt spt/+ + spt$ -Tiere. Der aus dem einen $+ + spt/+ + spt$ -Paar gezüchtete Stamm weist dagegen eine fast normale Vitalität auf, ebenso ein nebenbei erhaltener „markierter“ *lt spt/lt spt*. Dagegen zeigte eine *lt spt/Cy*-Zucht in der F_1 nie das erwartete Verhältnis:

$$\begin{array}{ccc} lt\ spt/Cy & : & lt\ spt/lt\ spt \\ 2 & : & 1 \end{array}$$

Die Homozygoten erscheinen in sehr geringer Zahl oder fallen ganz aus.

¹ *fes* = female steril 2; 5 ±: Sterilität des ♀ bewirkend; *lt* = light 2; 55,0 ±: Augenfarbe hell; *Cy* = Curly 2; 8,5 ±: aufgebogene Flügel, mit Inversionen in beiden Armen des Chromosoms, homozygot letal.

2. Charakterisierung der Mutante *spt*.

Die Männchen des *spt*-Stammes zeigen in ihrem Geschlechtsapparat keine Abweichungen vom Wildtyp. Die Auswirkung von *spt* scheint demnach *geschlechtsbegrenzt* zu sein. Die *spt*/+-Weibchen unterscheiden sich auch nicht vom Wildtyp. Semidominanz liegt offenbar nicht vor, *spt* ist also *rezessiv*.



Abb. 1. Spermatheken des *spt*-Stammes.

Homozygote *spt*-Fliegen haben einen unpaaren Spermathekengang mit 1, 2 oder 3 Kapseln (Abb. 1). In Wildstämmen sind die Spermatheken und ihre Gänge paarig (Abb. 2). Verschiedentlich wurden allerdings schon einzelne Fliegen mit 3 oder mehr Spermatheken gefunden (NONIDEZ 1920, STURTEVANT 1926, WEXELSEN 1928 und MATHER). In unserem neuen Stamm ist die *Penetranz des geschilderten Merkmals 100%*. Nur in den extremen Zuchttemperaturen von 28,5° C und 18° C finden sich gelegentlich in einem gewissen Prozentsatz Individuen mit paarigen Spermathekengängen (Abb. 1, links oben). Wie spätere Untersuchungen zeigen, sind solche Fälle aber auf Grund ihres Entwicklungsganges nur als Konvergenzerscheinungen zum Wildtyp aufzufassen (S. 129).



Abb. 2. Spermatheken des Wildstammes.

Die Vermutung lag nahe, daß die paarigen *Parovarien* von dieser Mutation ebenfalls betroffen, d. h. unpaar angelegt würden. Sie sind aber im *spt*-Stamm ausnahmslos paarig wie beim Wildtyp. Wird der neue Stamm in 18° C gehalten, so treten zwar ab und zu Abnormitäten an diesen Anhangsdrüsen auf, nämlich Verknotungen des Drüsenganges. Weiter zeigte sich, daß das unpaare Receptaculum seminis in den Zuchttemperaturen von 18° C und 28,5° C in seltenen Fällen sich distal verzweigt, wie der unpaare Spermathekenductus der *spt*-Mutante. Ob diese gelegentlichen Modifikationen auch beim Wildgenotypus auftreten, wissen wir nicht. Die Beobachtungen sollen deshalb auch nicht weiter verwertet werden.

Die Imagines des neuen Stammes sind durchschnittlich kleiner als die des Wildstammes Zürich oder des markierten Stammes *lt spt*. Messungen an Puppen,

die als Larven unter gleichen Futterbedingungen gehalten worden waren, ergaben einen durchschnittlichen Längenunterschied zwischen „*lt spt*“ und „*spt*“ von 0,5 mm bei einer mittleren Länge von 3 mm der *lt spt*-Puppe. Dies kann aber nicht allein *spt* zugeschrieben werden, sonst müßten die *lt spt*-Tiere die Verkleinerung auch zeigen. Die Frage nach den Ursachen dieses Effektes muß offengelassen werden.

Entgegen der Erwartung konnten *keine pleiotropen Wirkungen* von *spt* am übrigen Geschlechtsapparat oder anderen Organsystemen nachgewiesen werden.

3. Ein Faktor oder mehrere?

Da jetzt ein Stamm von reinen *spt*-Tieren vorliegt, der eine Penetranz von 100% für das *spt*-Merkmal aufweist, kann untersucht werden, ob ein Gen allein die Abweichung vom Wildtyp bedingt. HADORN und GRABER (1944) haben zwar schon vom rezessiven Erbfaktor und seinem Locus (*spt*) gesprochen. Es war aber notwendig, diese einfache Annahme zu verifizieren.

Wenn wir untersuchen wollen, ob der *spt*-Effekt durch einen Faktor oder mehrere bedingt wird, müssen wir zunächst unterscheiden zwischen der wesentlichen Merkmalsänderung und ihren Modifikationen. Allen Trägern der Mutation ist gemeinsam, also wesentlich, der *unpaare Spermathekenductus*. Hat dieses Merkmal einen monohybriden Erbgang?

Weibchen des neuen Stammes wurden mit Wildtypmännchen aus dem Stamm Berlin ausgekreuzt. Eine Inter-se-Weiterzucht der F_1 ergab in der F_2 -Generation folgende Frequenz der Phänotypen:

<i>spt</i>	:	+
95		305

Das Ergebnis weist deutlich auf eine *monohybride Spaltung* hin (1:3).

Die plus-Phänotypen der F_2 wurden zu Rückkreuzungen mit *spt/spt*-Tieren angesetzt. Es ergeben sich dabei folgende Möglichkeiten:

1. $+/+ \times spt/spt$ F_3 : phänotypisch wild
2. $+/spt \times spt/spt$ F_3 : Aufspaltung 1:1.

Ein 1:2-Verhältnis der Zuchten mit Wildphänotypen zu jenen mit Aufspaltung bestätigte die schon gewonnene Erkenntnis. Damit ist gezeigt, daß das bezeichnete Merkmal *spt* *unifaktoriell* bedingt ist. Nach unveröffentlichten Mitteilungen ist von MATHER ein Stamm mit mehreren Spermatheken gezüchtet worden. Dieses Merkmal scheint dort offenbar durch mehrere Faktoren bedingt zu sein. Es besteht also keine direkte Übereinstimmung mit unserem Stamm.

4. Lokalisation.

Der Faktor *spt* gehört in die gleiche Koppelungsgruppe wie *fes* und *lt*. Er liegt also im 2. Chromosom. Zu den Crossing-over-Kreuzungen wurden als Parentalgeneration Weibchen sowohl aus dem reinen *spt*-Stamm wie aus dem markierten *lt spt*-Stamm verwendet und Männchen mit einem dominanten Faktor des 2. Chromosoms. Als dominantes Markierungsgen eignete sich dazu am besten *Lobe*² (2; 72,0). Den *spt*-Faktor in eine neue Kombination mit rezessiven Genen einzukreuzen, erwies sich als zu umständlich, da 1. die *spt*-

Tabelle 1. *Mathematische Auswertung der Auszählergebnisse verschiedener Versuche zur Lokalisation des Faktors spt.*

Versuch	Anzahl	Austausch %	Mittel %	Wahr- schein- licher Fehler	Ab- weichung vom Mittel	Fehler- quadrat	σ
L^2-spt	1	664	9,5	0,82	0,84	0,7056	1,08
	2	1169	8,5	0,58	0,16	0,0256	
	3	609	8,0	0,78	0,66	0,4356	
$lt-spt$	1'	255	6,2	1,06	0,0	0,000	0,283
	2	1169	6,0	0,48	0,2	0,04	
	3	609	6,4	0,69	0,2	0,04	

Männchen phänotypisch nicht kenntlich sind, 2. die Weibchen erst nach der Eiablage auf ihren Phänotypus untersucht werden können und 3. wieder mit einer geringeren Vitalität der reinerbigen *spt*-Fliegen gegenüber den heterozygoten gerechnet werden mußte.

Die Rückkreuzungen waren:

$$spt +/+ \times L \times spt/spt \quad \text{und} \quad lt \ spt +/+ \times L \times lt \ spt/lt \ spt.$$

Wie Tabelle 1 zeigt, wurden je ein Zweipunktversuch $spt-L^2$ und $lt-spt$ (Versuche 1 und 1') und zwei Dreipunktversuche $lt-spt-L^2$ (Versuche 2 und 3) durchgeführt. Die von STERN (1933) geforderten Regeln für Crossing-over-Versuche wurden streng eingehalten. Im übrigen wurden die Austauschprozente durch die Produktmethode an Hand der IMMERSchen Tabellen ermittelt. Die Ergebnisse der beiden Versuchsgruppen — Zwei- und Dreipunkt — durften zusammengefaßt werden, da die Versuchsbedingungen vollständig die gleichen waren. Es ergab sich aus den Austauschwerten, daß *spt* zwischen *lt* und L^2 liegt. Die Zahlen zeigen innerhalb jeder Teilstreckengruppe eine recht gute Übereinstimmung. Die Forderung, daß $\frac{2}{3}$ der Fehler absolut kleiner als die Dispersion σ sei, ist erfüllt und damit die Versuchsreihe einwandfrei. Wenn wir aber die erhaltenen Teilwerte $lt-spt = 6,2$ und $spt-L = 8,6$ addieren, so ist der Wert von 14,8 zu klein gegenüber dem Standardwert *lt* (55,0) — L^2 (72,0) = 17.

Auf der Standardchromosomenkarte wird *lt* als unmittelbar links von der Spindelfaseransatzstelle liegend mit dem gleichen Locus wie diese angegeben. Nun ist es eine bekannte Tatsache, daß in solchen Fällen die Austauschwerte herabgesetzt sind. So geht aus einer Arbeit von BEADLE (1932) hervor, daß bei Benützung eines Translokationsstammes III—IV die Crossing-over-Werte gegenüber jenen im Normalstamm herabgesetzt sind. BEADLE führt das auf die unmittelbare Nähe des Centromers im Translokationschromosom zurück. Auch LUDWIG (1935) weist auf die Tatsache hin, daß die Spindelfaseransatzstelle die Austauschwerte jener Strecken, die an einem ihr nahen Gen ansetzen, vermindert. Noch schärfer präzisiert wurden diese Erkenntnisse durch Untersuchungen MATHERS (1939), der feststellt, daß die Crossing-over-Häufigkeit in der Nähe des Centromers sowohl im Euchromatin wie im Heterochromatin vermindert ist. Aus diesen Hinweisen heraus muß der Locus *spt* von *L* aus berechnet und folglich mit $63,3 \pm$ angegeben werden. Die vorläufige Angabe (HADORN 1948) 61,5 muß dahingehend verbessert werden.

5. Der Einfluß von Umweltfaktoren auf die Realisation des Genotypus.

a) *Temperatur als modifikatorischer Einfluß.* HADORN und GRABER (1944) hatten gezeigt, daß im Ausgangsstamm *fest spt/Cy* in einer Zuchttemperatur von 28° C vorwiegend Spermatheken mit 2 Kapseln (= Zweier) auftreten. Für 18° C sind typisch die Spermatheken, die 3 Kapseln tragen (= Dreier). In 25° C herrschen Formen vor, bei denen nur eine Kapsel auf dem unpaaren Ductus sitzt (= Einer), daneben erscheinen hoch gegabelte Zweier (Abb. 1). Es stellte sich nun die Frage, ob der *spt*-Faktor im veränderten Genotypus die gleichen Temperaturreaktionen noch zeige. Bei der Züchtung des neuen Stammes war nur auf das wesentliche Merkmal des unpaaren Ductus geachtet worden. In den vielfachen Auskreuzungen konnten durch die möglichen Crossing-overs doch Faktoren aus dem Genotypus abgespalten worden sein, die den Phänotypus *spt* mitbedingen. Der neue Stamm mußte also auf die Variabilität der Spermathekenformen geprüft werden. Diesmal wurde der Versuch mit größerem Material und etwas veränderten Zuchttemperaturen durchgeführt. Außerdem waren einige Typen anders einzureihen.

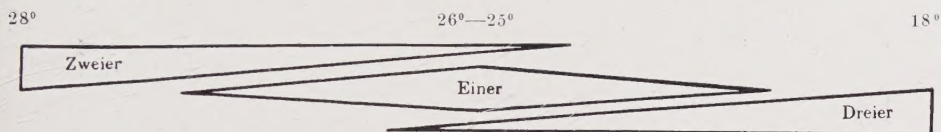


Abb. 3. Schema der Häufigkeitsverteilung für die 3 Haupttypen der Spermathekenmorphologie bei verschiedenen Zuchttemperaturen.

HADORN und GRABER (1944) hatten die Spermathekenerscheinungsform nach Dreiern, Einern, hoch und tief gegabelten Zweiern klassiert. Eine erste Ordnung der Klassen erfolgte nach Temperaturen. Innerhalb der bei hoher, mittlerer und tiefer Temperatur auftretenden Formtypen wurden die Klassen so geordnet, daß sich fließende Übergänge ergaben (Abb. 3).

Zwischen diesen Formen kommen alle Übergänge vor, die aber doch mit einiger Willkür eingereiht werden mußten. Aus der Erfahrung durch das viele Sezieren der Imagines konnten nun aber fragliche Formen ohne weiteres klassiert werden. So muß unterschieden werden zwischen hohen Zweiern mit zwei gleichen und solchen mit ausgeprägt ungleichen Kapseln. Jene gehören zu den wirklichen Zweiern, diese aber zum Dreiertypus. Übergangsformen, wie sie Abb. 4 erkennen lassen, führten zu dieser Auffassung. Diese Korrektur verkleinert die Streuung der Tabelle 1 aus HADORN und GRABER (1944) und bringt damit die Merkmalsabstufung im Zusammenhang mit der Temperatur deutlicher zum Ausdruck. Tabelle 2 bestätigt die schon veröffentlichten Untersuchungsergebnisse. Damit ist auch gezeigt, daß durch die teilweise Änderung des genotypischen Milieus *keine Merkmalsänderung* der ursprünglichen Mutation eingetreten ist. Weitergehende Schlüsse, wonach die Temperaturabhängigkeit allein durch den *spt*-Locus bedingt sei, dürfen aber, wie spätere Untersuchungen zeigen, daraus nicht gezogen werden.

Beachtung verdient noch die Feststellung von getrennten Formen bei 28,5° und 18°. Bei einzelnen Tieren ist die Trennung schon dadurch angedeutet, daß zwei Kanäle in gemeinsamer Scheide aus dem Ovidukt-Uterus treten. In

Tabelle 2. Häufigkeit der Spermathekenformen in den verschiedenen Zuchttemperaturen. Kapseln und Ausführungsgänge schematisiert. (Vgl. Abb. 1, S. 108.)

Zuchttemperatur Grad									Total
28,5	4	73	32	10					119
26			47	58	32				137
23,5			2	86	31	10			129
20,5				11	41	36			88
18					10	58	30	3	101

anderen Fällen ist die Trennung durch unmittelbare Nachbarschaft der Ausführungsgänge zweifelhaft. Diese Beobachtungen sollen in anderem Zusammenhang noch verwertet werden (S. 129).

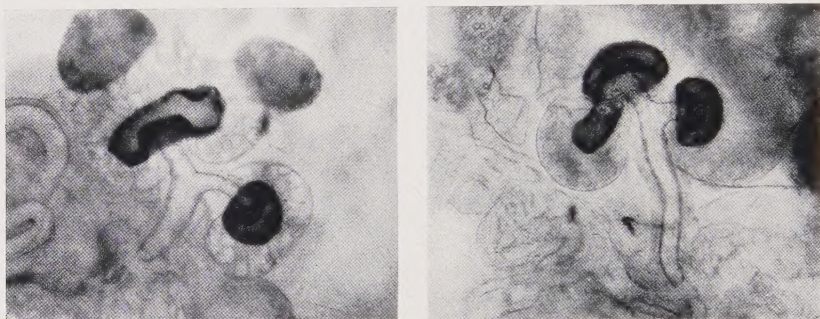


Abb. 4. Spermathekenformübergänge, die als Dreier eingereiht worden sind.

b) Weitere modifizierende Umweltfaktoren. Durch die Lokalisationsversuche wurde folgendes Problem aufgeworfen:

Für die Berechnung des Genlocus waren nur die Tiere ausgezählt worden, die während der ersten 6 Tage geschlüpft waren. Um beiläufig die Abnahme der Austauschwerte zu beobachten, wurden in einem der Versuche die später schlüpfenden doch gezählt. Gegen Ende der Auszählung erhöhte sich auffällig, entgegen jeder Erwartung, die Zahl der Austauschtiere. Die Zunahme betraf aber nur $+ spt$ -Phänotypen, während die ihnen entsprechenden Austauschklassen mit dem spt -Merkmal eine deutliche Verminderung aufwiesen. So verhielten sich $lt++$ zu $+ spt L$ wie 3:1 statt 1:1. Ein ähnliches Mißverhältnis war bei näherer Prüfung auch zwischen den beiden Nichtaustauschklassen festzustellen, nur fiel die Vermehrung oder Verminderung um einen ähnlichen Betrag bei den größeren Zahlen nicht ins Gewicht. Nun waren die Spätgeschlüpften bedeutend kleiner. Das legte die Vermutung nahe, daß diese „Kümmerformen“ in einer gewissen Beziehung zu dem regelwidrigen Auszählresultat standen. Da weiter im Temperaturversuch (Tabelle 2) vereinzelt Tiere mit getrennten Spermathekengängen festgestellt worden waren, so rechtfertigte sich die Annahme, daß sich unter den $+ spt$ -Austauschtieren spt -Genotypen mit getrennten Gängen verbargen.

Es war offensichtlich, daß das Auftreten der Kümmerformen in kausalem Zusammenhang mit der Futtermenge stand. Nun wurden Larven, die für den spt -Locus homozygot waren, in wenig Futter aufgezogen. Es traten wieder Kümmerformen auf und damit auch häufiger getrennte Spermathekengänge oder sehr tief verbundene. Je mehr Larven in immer gleich geringe Futtermengen eingesetzt wurden, desto mehr getrennte Formen waren zu finden. In der Zuchttemperatur von $28,5^{\circ}C$ traten bei der größten Larvenzahl (200 je Schale) durchschnittlich 10% getrennte Formen auf, in $18^{\circ}C$ 22%, in $25^{\circ}C$ aber fast keine. Nun zeigen die 25° -Tiere ja überhaupt selten eine Aufspaltung des Ganges. Dies deutet darauf hin, daß der Mangel an gewissen Nährstoffen die durch die Temperatur

schon festgelegte Modifikation nicht mehr wesentlich zu beeinflussen vermag: Einer bleiben Einer, Zweier bleiben Zweier. Eine statistisch einwandfreie Korrelation zwischen der Zahl der Tiere mit getrennten Spermathepengängen und der Futtermenge, die zur Aufzucht verwendet wurde, war nicht nachzuweisen, wissen wir doch vorderhand gar nicht, welcher Art die Stoffwechseleinflüsse sind und welche Komponente des Futters hier ausschlaggebend ist. M. VOGT (1937) fand, daß verschiedene Futterbedingungen die Manifestierung der Mutation *Va* — *Venae abnormes* — bei *D. melanogaster* beeinflussen, vor allem Wassermangel, der seinerseits bedingt sein kann durch die Übervölkerung einer Kultur. Im Falle der *spt*-Zuchten lassen sich aber Stoffwechsel- und Temperaturmodifikation nicht klar trennen, wie die Tatsache zeigt, daß nur in den Extremtemperaturen getrennte Formen in nennenswerter Zahl erscheinen.

Wir können immerhin festhalten: *Die Futterzusammensetzung verändert die durch die Temperatur determinierte Modifikation.* In Kümmerzuchten finden sich prozentual mehr Tiere mit sehr tief gegabelten oder sogar getrennten Spermatheken als in Normalzuchten von 18° und 28° (Tabelle 2, S. 112). Mangelfutter führt also zu einer tieferen Ansetzung der Verzweigung des unpaaren Ductus. Die Futterzusammensetzung könnte sich in diesem Sinne auswirken, daß sie entscheidet, in welchem Zeitpunkt der Morphogenese die durch die Temperatur schon bestimmte Verzweigung des Spermathepenganges einsetzt. Erfolgt sie sehr früh, so hat das getrennte Kanäle zur Folge, wenn etwas später, tief vereinigte. Das würde auch erklären, warum in der Zuchttemperatur von 25° C sehr wenig getrennte Gänge zu finden sind: Nur die schon als Zweier oder Dreier bestimmten Spermathepengänge können zu getrennten werden, und das auch nur in einem bestimmten Prozentsatz. In 25° C sind aber Zweier oder Dreier nur in verschwindend kleiner Zahl vertreten. Es ist möglich oder sogar wahrscheinlich, daß die Temperaturen selbst die Futterzusammensetzung verändern, besonders die hohe Temperatur kann zu einem übermäßigen Wasserverlust führen.

Diese Hypothesen setzen aber etwas Entscheidendes voraus: Tiere aus dem *spt*-Stamm mit getrennten Spermatheken sind nicht nur genotypisch, sondern auch entwicklungsgemäß *spt*-Tiere und keine Wildtypen. Merkmalsanalytische Tatsachen scheinen mir aber nicht genügend, um diese Annahme zu rechtfertigen. Ontogenetische Untersuchungen solcher Formen sind dazu nötig. Die Frage, ob die Kümmerformen normale Wildtypen oder echte Phänokopien des Wildtyps oder schließlich Konvergenzerscheinungen des Genotypus *spt* zum Wildtyp sind, muß damit später entschieden werden.

6. Genische Modifikatoren.

Für die Lokalisation des Faktors *spt* war es ohne Bedeutung, ob in den Zuchten Einer, Zweier oder Dreier auftraten; wesentlich für die Klassierung der Austausch- und Nichtaustauschtier war nur der unpaare Spermathekenductus. Die Manifestationshäufigkeit jedes Typus wurde aber dennoch in jedem Lokalisationsversuch wieder geprüft. Dabei ergaben sich Unstimmigkeiten: Nachdem der neue Stamm mit *L²/Cy* ausgekreuzt und die F₁-Weibchen mit *spt/spt*-Männchen gepaart worden waren, erwarteten wir in der F₂ vorwiegend Einer, wenige Zweier und gar keine Dreier, da die Zuchten in 25° C gehalten wurden. Die Sektionen ergaben aber teilweise ein anderes Bild. Einzelne Zuchten entsprachen der Erwartung, in anderen Zuchten des gleichen Versuches fanden sich Weibchen mit 3 Spermatheken neben solchen mit 1

oder 2. Die Temperaturen waren täglich geprüft worden. Die Ursache der Verschiedenheiten konnte also nur in den Auskreuzungen liegen. Der Genotypus des *spt*-Stammes war dabei natürlich teilweise durch den des Stammes *L²/Cy* ersetzt worden, das Gen *spt* fand sich in diesem Falle in einer neuen Kombination. Eine ähnlich veränderte Temperaturreaktion zeigten auch jene Stämme, die aus der Kreuzung *spt* × Wildstamm hervorgingen. In diesem Falle war *spt* in einen neuen Wildgenotypus eingekreuzt worden. Die Annahme war gegeben, daß im reinen *spt*-Zuchtstamm neben dem lokalisierten Gen *spt* noch andere *Erbfaktoren* mitwirkten und die Modifikationen des *spt*-Typus bedingten. Ob sie in den Chromosomen oder im Plasma liegen, mußte mit reziproken Auskreuzungen der nachfolgenden Versuchsanordnung geprüft werden:

P	♀ <i>spt/spt</i> × ♂ <i>+/+</i> reiner Stamm	♀ <i>+/+</i> × ♂ <i>spt/spt</i> reiner Stamm
F ₁ × P	♀ <i>spt/+</i> × ♂ <i>spt/spt</i> reiner Stamm	♀ <i>+/spt</i> × ♂ <i>spt/spt</i> reiner Stamm
F ₂	Aufzuchten je in 18°, 25° und 28,5° C	Aufzuchten je in 18°, 25° und 28,5° C

Ergebnisse und Deutung:

1. Die Nachkommen aus den reziproken Kreuzungen verhalten sich in bezug auf die Temperaturmodifikabilität gleich. Plasmatische Einflüsse sind also nicht anzunehmen.

2. In der F₂ zeigen die homozygoten *spt/spt*-Weibchen eine Aufspaltung in temperaturtypische *spt*-Formen und nicht typische, also modifizierte *spt*-Formen im Verhältnis 1:1. Da der Faktor rezessiv ist, spalten die heterozygoten Tiere nicht auf. Die für eine Zuchttemperatur nicht typischen *spt*-Formen sind immer Dreier; in 18° sind also die atypischen nicht von den typischen zu unterscheiden.

Als naheliegendste Annahme zur Erklärung dieses Verhältnisses ergibt sich, daß im reinen *spt*-Stamm *genische Modifikatoren* vorhanden sind. Über Zahl und Lokalisation läßt sich vorderhand noch nichts Bestimmtes aussagen.

TIMOFFÉEF-RESSOVSKY (1934) führt den Unterschied in der Penetranz des Merkmals *venae transversae incompletae (vti)* von *Dros. funebris*, eingekreuzt in verschiedene genotypische Milieu, auf verschiedene Kombinationen von Modifikationsgenen zurück. Auch M. VOGT (1937) konnte den Einfluß solcher Faktoren auf eine Mutationsmanifestierung nachweisen. Aus ihren Versuchen geht hervor, daß diese Gene nicht im gleichen Chromosom wie der Hauptfaktor liegen. Sie sind aber nicht lokalisiert worden. Auch GOLDSCHMIDTS (1938) Dominigene können als Modifikationsgene bezeichnet werden.

III. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen.

1. Temperatursensible Periode.

Nach der Feststellung von eindeutigen, temperaturbedingten Unterschieden in der Spermathekenmorphologie war es gegeben, die entsprechende Determinationsphase zu bestimmen, d. h. die *temperatursensible Periode* der *spt*-Merkmale.

Aus 2-Stunden-Gelegen einer Massenzucht wurden je 60 frischgeschlüpfte Larven herausgelesen und in eine Zuchttemperatur von $18 \pm 1^\circ \text{C}$ gebracht. Alle entwickelten sich unter gleichen Raum- und Futterbedingungen. Eine Schale blieb als Kontrolle während der ganzen Larven- und Puppenentwicklung in der Ausgangstemperatur, eine 2. wurde nach 24 Stunden in $28 \pm 1^\circ \text{C}$ versetzt, eine 3. nach 2mal 24 Stunden, eine 4. nach 3mal 24 Stunden usw. Ganz junge Larven erwiesen sich als wenig widerstandsfähig gegen Temperaturänderung, bei älteren waren die Ausfälle gering. Nach dem Schlüpfen der Imagines wurden die Weibchen seziert. Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse (vergleiche die Kontrolle auch mit Tabelle 2!).

Die Tiere der Versuchsserien 1—5 zeigen Zweierspermatheken, die typisch sind für die Zuchttemperatur von $28,5^\circ \text{C}$ (Tabelle 2, S. 112). 5 Tage in 18°C genügen also nicht, um Dreier zu determinieren. Erfolgte der Wechsel erst am 6. Tage oder später, so wurden die Spermatheken als Dreier entwickelt, wie wenn sie nur unter dem Einfluß von 18°C gestanden hätten. In einer Zuchttemperatur von 18°C ist folglich nach dem 6. Tag der Larvenentwicklung, also *vor der Pupariumbildung* (P) die Morphologie der Spermatheken durch die Temperatur determiniert.

Da bei höherer Temperatur die Entwicklung rascher vor sich geht, muß die sensible Phase dementsprechend auch früher einsetzen. Die reziproken Versuche bestätigten dies (Tabelle 4). Die Larvenentwicklung wurde in $28 \pm 1^\circ \text{C}$ begonnen und nach einer Dauer von einem bis mehreren Tagen in 18°C fortgesetzt und beendet. In der Tabelle 4 fällt auf, daß die Serien 1—3 und 4—5 sich in der Merkmalsausbildung der Spermatheken unterscheiden. Die letzten 2 Serien, die also nach dem 4. Tag der Larvenentwicklung umgesetzt wurden, zeigen mehr Übereinstimmung mit der Kontrollserie (K) als die vorangehenden. In der Serie 4 zeigt zwar nur ungefähr die Hälfte der untersuchten Tiere den Wechsel gegenüber den Serien 1—3, die vorwiegend Dreier aufweisen. Bei der anderen Hälfte der untersuchten Tiere müßte also die Determination zum Zweier nach dem 4. Tag, also nach der für diese Temperatur normalen Pupariumbildung erfolgt sein, zeigen sie doch die Merkmale von 18°C , nämlich

Tabelle 3. Wechsel der Zuchttemperatur und seine Auswirkung auf die Spermathekenmorphologie.

----- in $28,5^\circ$, ————— in 18°C . P Puparisierung; Z Zweierspermatheke; E Einer; D Dreier; K Kontrolle.

Versuchs- serie	Tage der Larven- und Puppenentwicklungszeit															Spermatheken		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Z	E	D
1	—	—	—	—	—	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7		
2	—	—	—	—	—	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12		
3	—	—	—	—	—	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	3	
4	—	—	—	—	—	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	15	2	
5	—	—	—	—	—	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	43		
6	—	—	—	—	—	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4		14
7	—	—	—	—	—	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2		17
8	—	—	—	—	—	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—		3	27

Tabelle 4. *Spermathekenmorphologie von Fliegen, die während der Entwicklung aus 28,5° in 18° C umgesetzt worden sind. (Abkürzungen wie in Tabelle 3.)*

Versuchs- serie	Tage der Larven- und Puppenentwicklungszeit															Spermatheken		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Z	E	D
1	-----	-----	-----	-----	-----	P	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	2	2	19
2	-----	-----	-----	-----	-----	P	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	5		32
3	-----	-----	-----	-----	P	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	2	1	33
4	-----	-----	-----	P	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	8	5	11
5	-----	-----	-----	P	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	24		
6	-----	-----	-----	P	-----	-----	-----	-----	K	-----	-----	-----	-----	-----	-----	29	1	

Dreierspermatheken. Wie erklärt sich dieser Widerspruch zu den Ergebnissen der Tabelle 3? Die Maximaltemperatur von 28—29° C führt zu einer Streuung in der Entwicklungsdauer, indem die Larven früher Stadien häufig von einer Entwicklungsverlangsamung betroffen werden. Solche Tiere erreichten die sensible Periode später und verpuppten sich auch später. Die Tiere mit Dreiern der Serie 4 sind 2 Tage später seziert worden als die übrigen der gleichen Serie, da sie im Zeitpunkt der ordentlichen Kontrolle noch gar nicht geschlüpft waren.

Die Ergebnisse dieser Versuchsgruppe lassen daher doch den Schluß zu, daß die *temperatursensible Phase vor der Verpuppung abgeschlossen ist*.

18° C und 28,5° C sind keine optimalen Zuchttemperaturen. Da sie aber ganz eindeutige Unterschiede in der Ausbildung der Spermatheken zur Folge haben, wurden sie für die ersten 2 Versuchsgruppen gewählt. Läßt sich nun die temperatursensible Phase auch in der Standardtemperatur von 25° C ermitteln? In 25° C entstehen wohl vorwiegend Einer, aber es gibt daneben Übergänge zu den Zweiern wie zu den Dreiern (Tabelle 2, S. 112). Diese Variationsbreite würde aller Voraussicht nach die Bestimmung der sensiblen Phase erschweren. Der Versuch wurde dennoch durchgeführt und dabei die Larvenentwicklungszeit in Stunden statt wie bisher in Tagen angegeben.

Wenn wir in der Tabelle 5 in jeder Versuchsserie die Höchstzahl herausheben, so erkennen wir, daß die Spermathekenmorphologie der Transferzuchten von 84 Stunden an sich nicht mehr wesentlich von jener der Kontrollzuchten

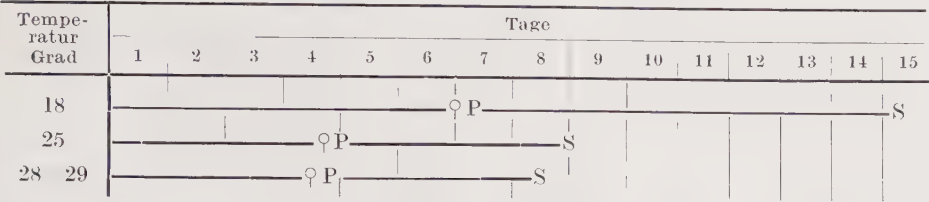
Tabelle 5. *Auswirkung des Temperaturwechsels in verschiedenen Zeitpunkten der Larvenentwicklung (Stunden nach Schlüpfen).*

Z Zweier; E Einer; D Dreier.

Auf- enthalt in 25° Stunden nach Schlüpfen	Versetzt in 18°			In 25° geblieben			Versetzt in 29°		
	Z	E	D	Z	E	D	Z	E	D
2	—	—	10	2	11	2	10	2	—
60	—	2	16	5	9	5	15	2	1
72	1	—	14	3	8	4	24	6	—
84	5	26	10	4	10	3	7	22	2
90	9	50	3	5	16	1	10	53	1

Tabelle 6. *Entwicklungsperioden der Larve und der Puppe bis zur Imago und Ende der temperatursensiblen Phase (♀).*

P Puparisierung; S Schlüpfen der Imago.



unterscheidet. Besonders gut ist die Übereinstimmung bei 90 Stunden. In der Standardtemperatur von 25° C ist die temperatursensible Phase der Spermathekenentwicklung vor der Puparisierung bei 84—90 Stunden des Larvenstadiums beendet.

Damit werden die Ergebnisse der ersten 2 Versuchsgruppen (Tabelle 3 und 4) bestätigt und wir können sie im Zusammenhang mit den entsprechenden Entwicklungszeiten zusammenstellen (Tabelle 6).

Die bisherigen Versuche geben uns auch einigen Aufschluß über die *Dauer der sensiblen Phase*. Näher kommen wir der Lösung dieses Problems aber erst durch eine veränderte Versuchsanordnung. Nach den Erfahrungen der ersten Experimente wurde wieder die Ausgangstemperatur von 18° C gewählt. Sie ist zweckmäßiger als 25° C und 28,5° C. Einmal sind keine Ausfälle durch Schlechtwerden des Futters festzustellen wie bei der letzteren, weiter kommen die Ergebnisse klarer zum Ausdruck als bei 25° C. Die Versuchsanordnung war damit folgende: Gleichaltrige Geschwisterlarven wurden in 18° C aufgezogen, dann je nach Serie nach 4, 5 oder 6 Tagen während verschieden langer Zeit in 28,5° C gehalten und darauf wieder in 18° C zurückgestellt, wo sie ihre Entwicklung nach unterschiedlicher Dauer beendigten. Tabelle 7 zeigt zusammenfassend die Resultate. Die Zahlen bestätigen und erweitern die schon erhobenen Befunde. Ist der Transfer mit dem 5. Tage abgeschlossen, oder erfolgt er erst nach dem 6. Tage, so bilden sich die Spermatheken so aus, wie

Tabelle 7. *Zeitpunkt und Dauer der temperatursensiblen Phase der Spermathekenentwicklung (eingerahmt).*

— in 18°, - - - - - in 28,5° C. (Gleiche Abkürzungen wie in den Tabellen 3—6.)

Versuchs- serie	Tage der Larven- und Puppenentwicklungszeit															Spermatheken		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Z	E	D
1																2	1	23
2																	2	24
3																20	2	
4																30	3	
5																42	1	
6																29	14	
7																2	1	29
8																2		27

sie typisch sind für 18° C, d. h. als Dreier. Die Temperatur des 6. Tages allein determiniert somit die Ausbildung der Spermatheken. Innerhalb 24 Stunden wird darüber entschieden, ob 1, 2 oder 3 Kapseln gebildet werden.

Unsere Untersuchungen haben folgendes ergeben:

1. Die Entwicklung der Spermatheken weist in jeder Zuchttemperatur eine *temperatursensible Phase* auf, deren Abschluß mit der Gesamtentwicklungszeit korreliert ist.

2. Die sensible Phase beginnt in 18° C mit dem 6. Tag, dauert in maximaler Temperatur ungefähr 24 Stunden *und schließt immer im Verlauf der 2. Hälfte des 3. Larvenstadiums ab*, also vor der Pupariumbildung.

3. Eine zweite temperatursensible Periode ist für die Spermatheken nicht festzustellen.

Mit diesen Zeitangaben sind sicher nicht absolut Anfang und Ende der temperatursensiblen Periode bestimmt. Wir müssen uns wohl vorstellen, daß die Temperatursensibilität allmählich einsetzt, zu einem Maximum anschwillt und langsam ausklingt. Wir haben mit unserer Untersuchung in erster Linie den empfindlichen Teil der Determinationsperiode erfaßt. Entsprechend der Auffassung GOLDSCHMIDTS (1938) ist anzunehmen, daß die „Wirkung nur dann beginnt, wenn ein spezifisches Substrat vorliegt“. Auf unser Problem übertragen würde das heißen, daß nur ein ganz bestimmter Stoff im Reaktionsablauf der Spermathekenbildung auf Temperatureinfluß antwortet. Die Determinationsphase der Spermathekenformen fällt in die Zeit der Larvenentwicklung, in der gegenüber der Embryonal- oder auch der Puppenentwicklung morphologisch keine so bedeutenden Veränderungen, außer dem Wachstum, festzustellen sind. Die Genitalimaginalscheibe wird frühlarval angelegt. Sie zeigt bis zur Puparisierung keine Organdifferenzierungen. Von HADORN und GLOOR (1946) wurde im 3. Larvenstadium lediglich ein Anlageplan der „Differenzierungstendenzen“ festgestellt. *Determinationsphase und eigentliche Differenzierungsphase fallen also nicht zusammen*. Die erstere ist durch keine unmittelbaren morphologischen Veränderungen gekennzeichnet.

Temperatursensible Perioden sind bei *Drosophila* in vielen Fällen festgestellt worden, unter anderem auch bei der Mutation *vestigial (vg)*. In neuester Zeit hat M. VOGT (1946) für die Bildung von doppelten Antennen und Palpen eine temperatursensible Periode in der 2. Hälfte des 3. Larvenstadiums festgestellt, für die Mutanten *aristapedia (ss^a)* und *proboscipedia (pb)* eine solche, die bis zur Pupariumbildung reicht. Zu einem überraschenden Resultat kommt M. VOGT bei der Untersuchung der Mutante *Venae abnormes (Va)*. Neben einer ersten temperatursensiblen Periode im Larvenstadium wird noch eine zweite im Puppenstadium beobachtet, in der *Va* durch die Temperatur in entgegengesetzter Richtung beeinflusst wird.

2. Transplantationsexperimente.

Eine weitere Möglichkeit, Näheres über die Reaktionskette vom Gen zum Merkmal zu erfahren, ist durch die Methode der Transplantation gegeben. Von vornherein ist diese Möglichkeit aber beschränkt durch die oft festgestellte Tatsache, daß Organanlagen in ihrer Entwicklung autonom sind. Der Wirkungsbereich des Gens ist in diesem Falle die merkmalsbildende Zelle selbst.

Es galt nun für unser Problem festzustellen, ob sich die Spermathekenanlage der Mutante *spt* autonom verhält, oder ob sie sich durch ein anderes Wirtsmilieu — in unserem Falle natürlich des Wildstammes — umstimmen läßt. Die Spermathekenanlage der Larve ist ein Teil der Genitalimaginalscheibe (Abb. 5). Alle Genitalorgane, mit Ausnahme der Keimdrüsen, gehen aus diesem imaginalen Zellkomplex hervor (vgl. HADORN und GLOOR 1946). Ebenfalls mit Hilfe von Transplantationen gelang es HADORN und GLOOR, jenen Bezirk der Imaginalscheibe abzugrenzen, aus dem in der Puppe das Spermathekenprimordium herauswächst. Im Zeitraum der temperatursensiblen Phase und bis über die Puparisierung hinaus ist dieser Bezirk äußerlich nicht von den übrigen Organanlagen zu unterscheiden. Wie später Schnittbilder durch die Genitalscheibe zeigen werden (S. 121), sind im Moment der Puparisierung keine Formverschiedenheiten zwischen den Anlagen bei *spt* und der Wildform und auch keine wesentlichen relativen Größenunterschiede festzustellen. Letzteres allerdings war nicht eindeutig zu bestimmen, da die Tiere des *spt*-Stammes kleiner sind.

Die Transplantationen wurden nach der allgemein üblichen Methode von EPHRUSSI und BEADLE (1935) durchgeführt. Einzelheiten können deshalb hier übergangen werden. Die Versuche mußten in 2 Serien durchgeführt werden. Eine erste umfaßte Transplantationen, bei denen Wirt und Spender in der sensiblen Phase oder schon darüber hinaus waren, was einem Larvenalter von 140 ± 4 Stunden bei 18° entspricht. In diesem Falle wurden die Versuchstiere in 18° aufgezogen und nach der Operation in 25° gehalten. Die Ausgangstemperatur von 18° wurde darum verwendet, weil so möglichst auffällige Formen, nämlich Dreier, zu erwarten waren.

Die Sterblichkeit durch die Transplantationsversuche betrug 40%. In den geschlüpften Imagines fand ich das Transplantat in 84% aller Fälle. Die Tabelle 8 zeigt die Ergebnisse der Sektionen. Aus a) läßt sich eindeutig der Schluß ziehen, daß sich die *spt*-Imaginalscheibe gegen Ende des 3. Larvenstadiums durch ein anderes Wirtsmilieu nicht umstimmen läßt. Die reziproken Versuche (Tabelle 8, b) dienten als Kontrollexperimente. Hier erscheint bei den $+/+$ -Implantaten eines mit 3 Kapseln*, wovon zwei auf einem Ductus, die Gänge aber weit getrennt. Dieses Ergebnis ist sicher auf eine Verletzung der Imaginalscheibe bei der Transplantation zurückzuführen, treten doch solche Regulationsleistungen auch bei Übertragung von $+/+$ in andere Stämme auf.

In einer 2. Serie standen Wirt und Implantatsspender im Moment des Versuches vor der sensiblen Phase. Das Larvenalter war jetzt 116 ± 4 Stunden,

Tabelle 8. Verhalten der Genitalscheibentransplantate und des Wirtes bei Wechsel der Zuchttemperatur nach der Transplantation.

Serie	Untersuchte Objekte	2 Spt	1 Spt	3 Spt	Getrennt
a) <i>spt</i> ↓ +	<i>spt/spt</i> -Implantate	3	22	—	—
	$+/+$ -Wirt	—	—	—	25
b) + ↓ <i>spt</i>	$+/+$ -Implantate	—	—	—	18*
	<i>spt/spt</i> -Wirt	15	—	3	—

Tabelle 9. *Transplantation ohne Wechsel der Zuchttemperaturen (18°) in einem früheren Entwicklungsstadium.*

Serie	Untersuchte Objekte	2 Spt	1 Spt	3 Spt	Getrennt
a) <i>spt</i> ↓ +	<i>spt/spt</i> -Implantate	3	14	—	2
	+/-Wirt	—	—	—	21
b) + ↓ <i>spt</i>	+/-Implantate	—	—	—	16**
	<i>spt/spt</i> -Wirt	5	4	4	3

wieder bezogen auf eine Zuchttemperatur von 18° C. Aus den oben geäußerten Gründen mußten die operierten Larven in 18° C übertragen werden. Jetzt betrug die Sterblichkeit nur noch 5%. Umgekehrt aber war das Implantat in 65% der geschlüpften Imagines nicht mehr zu finden oder nur noch als degeneriertes, bräunliches, strukturloses Gebilde. Dies geht wohl nicht auf Operationsfehler zurück, sondern deutet darauf hin, daß die transplantierte Genitalimaginalscheibe in diesem frühen Zeitpunkt leicht in der Entwicklung gestört wird. Die Ergebnisse finden sich in der Tabelle 9. In der Gruppe a) besteht keine zahlenmäßige Übereinstimmung zwischen Implantaten und Wirten. Zwei Implantate waren ohne Spermatheken. Das ist auf eine operativ bedingte Schädigung zurückzuführen. Die 2 Fälle von getrennten Gängen in a) gehören nicht dem Wildtyp an, sondern sind als Kümmerformen (S. 129) aufzufassen. Ebenfalls als Kümmerformen sind in den reziproken Versuchen b) die 3 Wirtstiere mit getrennten Spermatheken — 1 davon mit 3 Kapseln — zu deuten.

Auch in dieser Serie (Tabelle 9, b) finden sich unter den Wildimplantaten 2 Fälle mit 3 Spermatheken**, wovon 2 vereint und 1 frei. Durch Untersuchung ihrer Morphogenese könnten sie sofort klassiert werden. Wir dürfen sie, wie den Ausnahmefall der ersten Serie (Tabelle 8, b), als Regulationsleistungen des Wildtyps bezeichnen. Im übrigen sind auch hier die Ergebnisse eindeutig: Die *spt*-determinierte Genitalimaginalscheibe, die vor der sensiblen Phase transplantiert wurde, verhält sich im anderen Wirtsmilieu herkunftsgemäß. Alle Transplantationsexperimente zeigen also die *Autonomie der „spt-Reaktion“*.

IV. Morphogenese.

1. Ein Vergleich der Entwicklung des Geschlechtsapparates bei der Mutante *spt* und bei der Wildform.

Alle inneren und äußeren Genitalien gehen mit Ausnahme der Keimdrüsen aus der Genitalimaginalscheibe hervor (DOBZHANSKY 1930; HADORN und GLOOR 1946). Diese bildet sich während des 1. Larvenstadiums aus dem Ektoderm und löst sich später von der Hypodermis ab. Ihre Entwicklung ist von NEWBY (1942) an einer Mutante von *Drosophila virilis* untersucht worden. Sie stimmt mit derjenigen von *Drosophila melanogaster* mit Ausnahme der Entwicklungszeiten überein. Für die vorliegende Arbeit war nur die Weiterentwicklung der Genitalscheibe in der Puppe von Bedeutung, da erst in diesem Stadium die verschiedenen Organe des Genitalapparates, wie Uterus, Vagina und Ovidukte sich daraus differenzieren. Wie schon bei der Charakterisierung der Mutante *spt*

ausgeführt wurde (S. 108), zeigen unter den Anhangsorganen des Uterus nur die Spermatheken Unterschiede gegenüber dem Wildstamm. Eine Gegenüberstellung der beiden Typen hinsichtlich ihrer Entwicklung war gegeben. Die Morphogenese des männlichen Geschlechtsapparates wurde nicht untersucht, da ja das Phän geschlechtsbegrenzt, d. h. nur im ♀ wirkt.

a) *Methode.* Es wurden Massenzuchten angelegt, deren Eier sich in 24–25° C entwickelten. Um die Abweichung von der allgemeinen Entwicklung infolge individueller Variation der Entwicklungszeit möglichst auszugleichen, wurden keine Einzelpaarzuchten gehalten. Je 20 weibliche Larven, die ungefähr gleichzeitig das Ende des 3. Larvenstadiums erreicht hatten, wurden in Schalen mit wenig Futter umgesetzt und ihre Verpuppung abgewartet. Als Puparisierungsbeginn wurde der Zeitpunkt des Ausstülpens der Vorderstigmen festgehalten. Damit setzen in der Vorpuppe die wichtigen Umwandlungen ein, die erst zur eigentlichen Verpuppung führen. Der Vorgang der Puparisierung kann überaus leicht durch Druck gestört werden. Entweder ziehen dann einzelne Tiere die Stigmen wieder ein und kriechen ins Futter zurück oder es kommt zu einer unvollständigen Verpuppung mit nachfolgendem baldigem Absterben. Um dies zu verhindern, wurde der Zeitpunkt der Puparisierung auf einer Marke vermerkt und diese neben die Vorpuppe ins Futter gesteckt. Damit war jede Störung vermieden. Nun konnten die Puppen in Abständen von je 2 Stunden mit einem Zeitfehler von höchsten $\pm \frac{1}{2}$ Stunde in Bouin fixiert und nach 12–20 Stunden aus dem Puparium herausseziert werden. Alle nachfolgend vermerkten Zeiten sind also vom Moment der Stigmenausstülpung gemessen worden, und zwar bei einer Zuchttemperatur von $25 \pm \frac{1}{2}^{\circ}$ C.

Zur Untersuchung erwiesen sich Querschnitte am geeignetsten. Längsschnitte wurden nur gelegentlich verwertet. Die Färbung mit Hämalaun und nachfolgender Gegenfärbung mit Chromotrop ergab die klarsten Schnittbilder.

b) *Übereinstimmende Entwicklungsphase bei spt und Wildstamm.* Im Zeitpunkt der Verpuppung der Larve ist die Genitalimaginalscheibe von *Drosophila melanogaster* ein hantelförmiger Körper, dessen Lage in der Larve durch die Abb. 5 veranschaulicht wird. Die Form seines Hohlraumes entspricht der Oberflächenkontur der Scheibe (Abb. 6, links). Median ragt die dorsale Wandung keilartig ins Lumen hinein, kopfwärts aber abflachend. Bindegewebe¹ (Abb. 6; B) ist zu diesem Zeitpunkt nur ventral entwickelt und unterscheidet sich kaum von der Imaginalscheibe.

4 Stunden. Bis zu diesem Zeitpunkt zeigt sich in beiden Stämmen äußerlich keine Veränderung an der Genitalimaginalscheibe. Nun beginnt sich ihr Dach beidseits des medianen Einschnittes zu verdicken. Das Lumen weitet sich.

6 Stunden. Die ventrale Wandung der Scheibe ist dünner geworden und hat sich kaudal an die Hypodermis gelegt, um mit ihr zu verschmelzen. An der Berührungsfläche werden Hypodermis und ventrale Genitalwandung durch

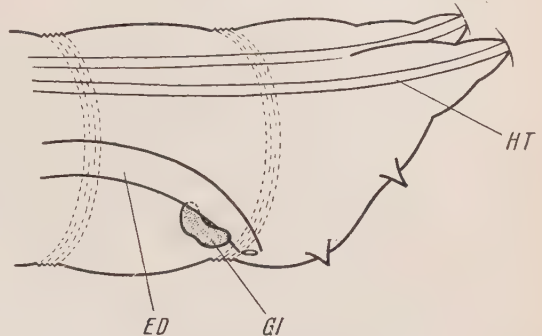


Abb. 5. Lage der Genitalimaginalscheibe (GI) im Larvenkörper. ED Enddarm, HT Haupttrachee.

¹ Einschließlich Muskelgewebe. In diesem Gewebe breiten sich später auch die Tracheen und Nerven aus, doch können diese Differenzierungen an Hand meiner Präparate nicht analysiert werden.

Auseinanderweichen der Zellen von der Medianen aus immer dünner. Damit entsteht hier die Genitalöffnung. Bindegewebe wächst jetzt auch dorsal um die Genitalscheibe.

8 Stunden. In der dorsalen Wandung bilden sich nach außen paarige Anschwellungen. Es sind die Primordien der Parovarien. Median und unpaar erscheint vor der Parovarienanlage, d. h. kopfwärts, eine weitere Zone vermehrten Wachstums, die sich ebenfalls dorsal auswölbt (Abb. 6, rechts). Aus ihr bilden sich die *Spermatheken*.

Bis zu diesem Zeitpunkt finden wir bei der Mutante *spt* und beim Wildtyp eine vollkommen übereinstimmende Entwicklung der Anhangsorgane: Die *Spermatheken* entwickeln sich aus einer unpaaren medianen Anlage, während die

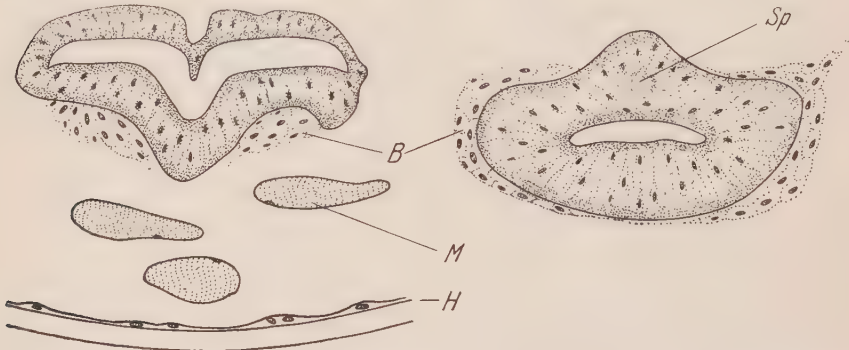


Abb. 6. Querschnitte durch Genitalimaginalscheiben in der Puppe. Phase der übereinstimmenden Entwicklung beim *spt*-Typus links (0 Stunden) und beim Wildtyp rechts (8 Stunden). *B* Bindegewebe; *M* Muskeln; *H* Hypodermis; *Sp* sich abzeichnendes Primordium der Spermatheken. Vergrößerung etwa 310 $\times$.

Primordien der Parovarien paarig angelegt sind. Von 10 Stunden an entwickeln sich die Spermatheken in den beiden Stämmen verschieden:

c) *Mutante spt*.

10 Stunden. Das Spermathekenprimordium wölbt sich dorsal in Form einer Knospe noch stärker vor. In ihm entsteht ein Lumen, das dann an der Stelle seiner größten Ausweitung mit dem Lumen der ganzen Genitalscheibe in Verbindung tritt. Ventral und median, wo die vordere Uterustasche entsteht, wird die Zellwandung dicker. Schmale Zellen liegen, anscheinend ohne regelmäßige geometrische Anordnung, dachziegelartig an- und übereinander.

12 Stunden. Das Spermathekenprimordium hebt sich durch eine Einschnürung deutlich von der übrigen Genitalanlage ab (Abb. 8a, *Sp*)¹. Kopfwärts wächst es zapfenartig vor, ist aber noch in der ganzen Längsausdehnung ventral mit dem Oviduktprimordium verbunden. Das Bindegewebe ist besonders stark auf den beiden Seiten entwickelt.

14 Stunden. Kopfwärts wächst das Primordium aus der Genitalanlage heraus. In einigen Fällen beginnt es sich am distalen Ende, wo es frei ins Körperlumen ragt, in der Querachse zu verbreitern (Abb. 8b, *Sp*). Damit setzt also

¹ In den Abb. 8 und 9 haben wir nebeneinander den morphogenetischen Entwicklungszustand gleicher Altersstadien für die *spt*-Mutante (links a—d) und die Wildform (rechts a'—d') dargestellt.

die seitliche Aufspaltung des Spermathekenganges hier ein. Sie ist nur bei wenigen 14stündigen Objekten zu finden. Aus diesen Primordien würden Zweier oder Dreier entstehen. Bei den Eiderspermatheken tritt keine Aufspaltung auf. Unter der Einwirkung von besonderen Umweltfaktoren kann die Aufspaltung schon in einem Zeitpunkt einsetzen, da das Primordium noch wenig entwickelt ist (S. 112 und 129).

16 Stunden. Das vertikale Wachstum der ganzen Genitalanlage nimmt noch zu. Sie liegt in diesem Stadium bei allen Schnittobjekten in einer ventralen, seitlich gepreßten Aussackung des Puppenkörpers. Die Zellkerne sind kleiner geworden. Das seitlich anliegende Bindegewebe steht hier beidseits

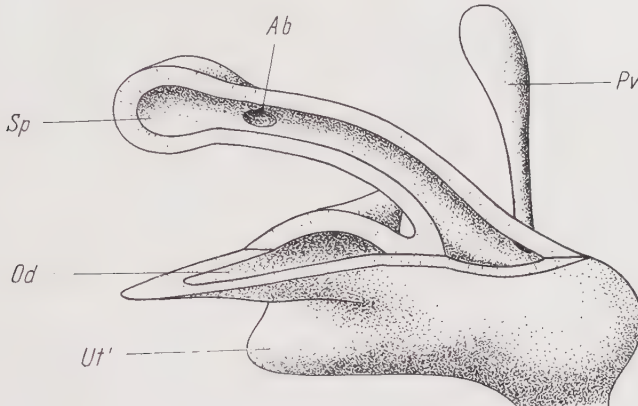


Abb. 7. Rekonstruktion des *spt*-Genitalapparates während der Entwicklung in der Puppe (28 Stunden). Oberteil durch Horizontal- und Vertikalschnitt geöffnet. *Sp* Spermatheken-, *Od* Ovidukt-, *Pv* Parovarienprimordien; *Ut'* vordere Uterustasche; *Ab* distale Verzweigung.

nur auf kurzem Bereich mit der Genitalanlage in Verbindung. An dieser Stelle ist keine feste Abgrenzung zwischen den beiden Geweben zu beobachten. Ob es sich um die Eintrittsstelle der Tracheen handelt, kann nicht entschieden werden.

18 Stunden. Der frei ins Körperlumen ragende Teil des Spermathekenprimordiums ist bereits größer als das mit dem Ovidukt verbundene Stück, ja er überragt kopfwärts die übrigen Teile der Genitalanlage. Seitlich und vorwärts wachsen die beiden paarigen Oviduktprimordien heraus (Abb. 8c, *Od*). Ventral bildet sich die Uterustasche als Blindsackgang, der nur noch an seiner Mündung mit dem Uterus zusammenhängt.

20 Stunden. Wo sich eine Verbreiterung des Spermathekenductus angedeutet hat, kommt es auch zur Aufspaltung seines Lumens in Seitenkanäle.

22 Stunden. Die Spermathekengänge liegen immer, und zwar vom Beginn der Aufteilung an, in der Frontalebene, also *neben- und nie übereinander*.

24 Stunden. Ob die auf einigen Schnitten sichtbare dünnhäutige sagittale Scheidewand in der vorderen Uterustasche (Abb. 9a, *Ut'*) nur ein Fixierungsartefakt ist, kann nicht festgestellt werden. Sie verschwindet später wieder.

26 Stunden. Die beiden paarigen Ovidukte sind länger geworden. Das unpaare Stück des Oviduktes ist aber noch sehr kurz oder überhaupt nicht feststellbar.

28 Stunden. In seltenen Fällen können durch die Aufteilung des Spermathekenlumens distal 3 Kanäle entstanden sein (Abb. 7, *Ab*), die sich aber immer

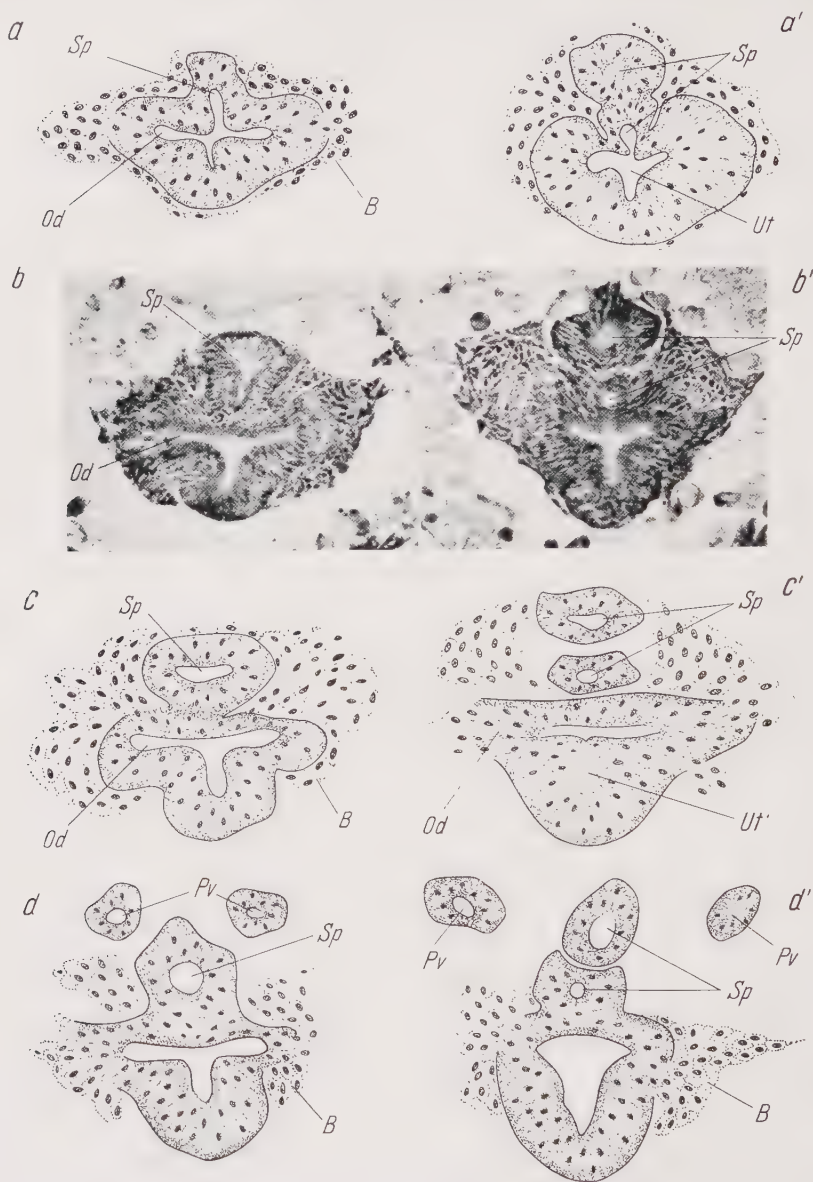


Abb. 8 a–d. Querschnitte durch Genitalimaginalscheiben während der Entwicklung in der Puppe: a a' bei 12 Stunden, b b' bei 14 Stunden, c c' bei 18 Stunden, d d' bei 22 Stunden. Links Mutante *spt*, rechts Wildtyp. Abbildung b b' Photo. Vergrößerung in allen Abbildungen etwa 310 ×. *Sp* Spermatheken-, *Od* Ovidukt-, *Ut* Uterus-, *Pv* Parovarienprimordien; *Rc* Primordium des ventralen Receptaculum; *Ut'* vordere Uterustasche.

zu einem Gang vereinigen. Es ist das Bild des Dreiers, wie es in 25° Zuchttemperatur auch auftreten kann (Abb. 9a, *Sp* und Tabelle 2).

32 Stunden. Der Querschnitt durch die unpaare Spermathekenmündung zeigt unter der Eintrittsstelle des Ganges ein ungeteiltes Lumen, den Uterus

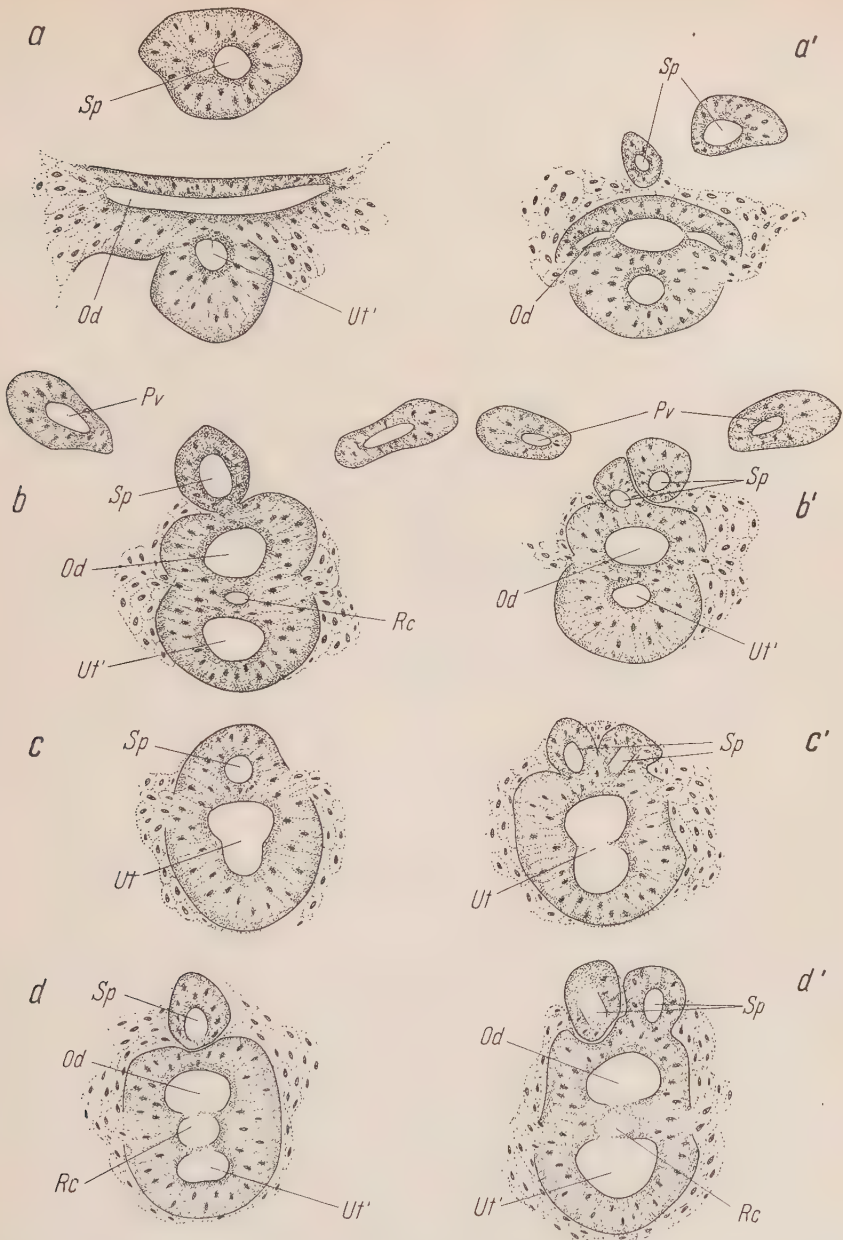


Abb. 9a–d. Querschnitte durch Genitalimaginalscheiben. a a' bei 28 Stunden, b b' bei 32 Stunden, c c' bei 36 Stunden, d bei 38 und d' bei 40 Stunden. Links Mutante *spl*, rechts Wildtyp. Vergrößerung in allen Abbildungen etwa 310 ×. Bezeichnungen wie in Abb. 8.

(Abb. 9c *Ut*). Unmittelbar vor dieser Mündungsstelle liegen 3 Höhlungen übereinander (Abb. 9b). Die obere bildet den späteren unpaaren Ovidukt

(Abb. 9b, *Od*). Die mittlere erstreckt sich über eine Länge von etwa 30μ kopfwärts, während die unterste schon vorher als blinder Gang endigt. Der mittlere Gang wird Mündungskanal des ventralen Receptaculum.

36 Stunden. Die Wandung der Spermathekenkanäle wird dünner. Ihr distales Ende wird kopfig. Die paarigen Ovidukte erreichen die Ovarien.

40 Stunden. Das Längenwachstum der Spermatheken hat sich stark verlangsamt. Die Wandung des zukünftigen ventralen Receptaculum weist eine starke Zellenvermehrung auf. Die Bildung der Windungen setzt ein.

44 Stunden. Muskulatur legt sich um die ventralen und lateralen Partien des Genitalapparates. Um die Spermatheken ist keine Muskulatur festzustellen.

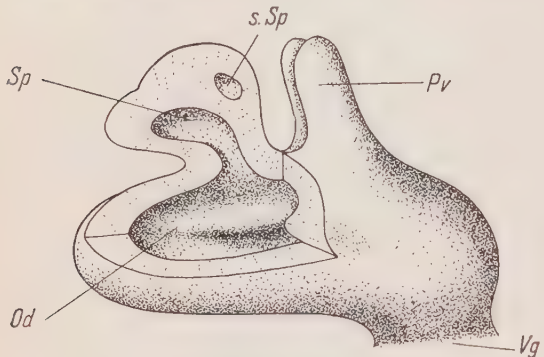


Abb. 10. Rekonstruktion des Wildgenitalapparates während der Entwicklung in der Puppe (12 Stunden). Links oben geöffnet gedacht, um die 2 Spermathekenlumina zu zeigen. *Sp* Spermatheken-, *Od* Ovidukt-, *Pv* Parovarienprimordien; *Vg* Vagina; *s.Sp* sekundäres Spermathekenprimordium.

Aus dem kopfigen Ende der Spermathekengänge entsteht durch Ausweitung und Abplattung der Zellen die Kapsel.

50 Stunden. Die Kapseln haben ihre endgültige Form erhalten. Der Uterusinnenraum wird durch Längsleisten strukturiert.

56–60 Stunden. Die Kapseln lassen auf ihrer Innenseite die beginnende Chitinisierung erkennen.

d) Wildstamm.

Parovarien und ventrales Receptaculum entwickeln sich im Wildstamm, wie es bei der

Mutante *spt* geschildert worden ist. Eine nochmalige Beschreibung kann also übergangen werden.

Wie entstehen nun im Wildtyp zwei vollkommen getrennte Spermatheken aus einer unpaaren Anlage? Wir verfolgen die Weiterentwicklung der Primordien ausgehend vom Stadium bei

10 Stunden. Während sich das Spermathekenprimordium aus der Genitalanlage stärker heraushebt, bildet sich dorsal eine anliegende Zellhaube, die sich deutlich vom benachbarten Bindegewebe durch eine scharfe Abtrennung und dichter gelagerte Zellen unterscheidet (Abb. 10, *s.Sp* und 8a', *Sp*).

12 Stunden. Diese Zellen gehören der Anordnung und Struktur nach zur Imaginalanlage. Sie sind wohl durch rasch aufeinanderfolgende Zellteilungen aus der primären Spermathekenanlage entstanden, bilden nun aber für sich eine Einheit, die allerdings den Kontakt mit der primären bewahrt.

14 Stunden. In dieser sekundären Zellanhäufung weitet sich nun auch ein Lumen aus (Abb. 8b'), das eher kaudal als dorsal den primären Kanal erreicht und sich mit ihm gemeinsam in den Uterus öffnet. Die Spermathekenmündung wird von NONIDEZ (1920) und STURTEVANT (1926) als Grenze zwischen Ovidukt und Uterus bezeichnet. In den folgenden Beschreibungen wird aber für diesen Genitalabschnitt nur die Bezeichnung Uterus gebraucht. An dieser Stelle bleiben beide Kanäle unter sich und mit der übrigen Genitalanlage in

Zusammenhang. Kopfwärts wächst aber das sekundäre Primordium frei von der Unterlage vor und wird so ebenfalls zu einem Spermathekenductus.

16 Stunden. Ausnahmslos liegen nun in allen Schnittobjekten die beiden Kanäle mehr oder weniger genau übereinander, in der Nähe ihrer Einmündung in den Oviduktuterus noch im festen Verband mit der ganzen Genitalanlage, kopfwärts aber sich frei davon abhebend. Die primäre Spermathekenanlage ist dünnwandiger geworden als die sekundäre. Sie behält aber ihren Vorsprung in der Längenausdehnung bei.

18 Stunden. Beide Spermathekenprimordien überragen bereits die ganze Genitalanlage. Das Stück, um das das primäre länger ist als das sekundäre, weitet sich zuerst kopfartig aus. Die wenigen Objekte, bei denen die beiden Spermathekengänge nicht genau übereinander liegen, sind wohl durch die Präparation verändert worden.

20 Stunden. Jetzt setzt eine deutliche *Drehung der Spermathekenprimordien* an deren Mündungsstelle ein (Abb. 8d'). Auch das distale Ende der Gänge kann von Anfang an von dieser Drehung betroffen werden, meist aber macht es sie verspätet mit. Die Rotation entsprechender Punkte der beiden Kanäle erfolgt in der Querschnittsebene.

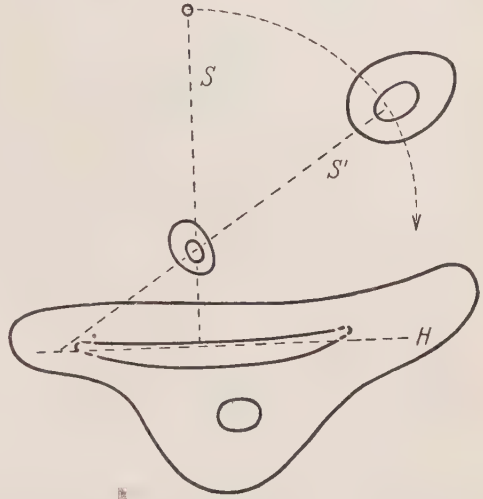


Abb. 11. Schema der Drehung der Spermatheken-ebene S zur Horizontalebene H bei 24 Stunden der Puppenentwicklung.

Um die Beschreibung dieser Drehung im folgenden kürzer zu fassen, sei ein geometrisches Bild angewendet (Abb. 11). Durch die Einmündungsstelle der beiden Kanäle wird vor der Drehung eine Sagittalebene (S) gelegt, und durch die paarigen Ovidukte an der Stelle ihrer größten lateralen Ausdehnung eine Horizontalebene (H). Bis zu 18 Stunden war der Schnittwinkel zwischen S und H ungefähr 90° . Von jetzt an wird dieser Winkel kleiner. Bei einigen Objekten zeigt sich eine Rechtsdrehung (Abb. 9b'), bei einigen eine Linksdrehung (Abb. 9c', 9d'), bezogen auf die Blickrichtung nach vorn. Eine spätere Untersuchung wird darauf noch einmal zurückkommen.

24 Stunden. Der Rotationswinkel beträgt ungefähr 45° .

28 Stunden. Er ist von jetzt an immer kleiner als 45° . Ovidukt, Uterus und ventrales Receptaculum werden von der Drehung nicht betroffen. Noch immer ist der primäre Spermathekenductus länger und dünnwandiger als der sekundäre.

32 Stunden. Der Rotationswinkel ist ungefähr 30° geworden (Abb. 9b'). Die beiden Kanäle münden in einen gemeinsamen kleineren Hohlraum, der nur kaudal mit dem Uterus in Verbindung steht (Abb. 12). Aus schon erwähnten Gründen (S. 126 unter 14 Stunden) erscheint der sekundäre, da von hinten

her geschnitten wird, zuerst frei ins Körperlumen ragend. In der Imago sitzen aber die beiden Spermatheken, äußerlich getrennt einmündend, auf gleicher Höhe am Uterus. Es muß also eine ganz gering *schraubende Drehung* erfolgen.

36 Stunden. Die Rotation in der Schnittebene ist fast abgeschlossen. Die beiden Einmündungsstellen sind noch nicht ganz auf gleicher Höhe (Abb. 9).

Nachdem die beschriebene Drehung beendet ist, vollzieht sich die Weiterentwicklung wieder wie in der Mutante *spt*. Durch diesen eigenartigen, sicher umständlichen Vorgang wird die Entwicklung der übrigen Teile des Genitalapparates nicht wesentlich betroffen.

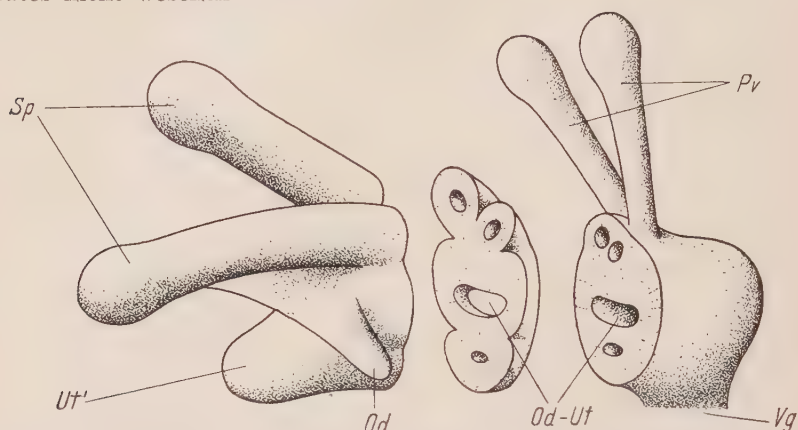


Abb. 12. Schematisches Bild des Wildgenitalapparates nach 32 Stunden Puppenentwicklung. In 2 Vertikalschnitten ist der Stand der Drehung der beiden Spermathekenprimordien in verschiedenen Querschnittebenen gezeigt. *Sp* Spermatheken-, *Od* Ovidukt-, *Ut* Uterus-, *Pv* Parovarienprimordien; *Vg* Vagina; *Ut'* vordere Uterustasche.

e) *Vergleich mit den Befunden von NEWBY (1942)*. Es lag nahe, jene Spezies der Gattung *Drosophila* auf die Entwicklung des Geschlechtsapparates zu untersuchen, die paarige, getrennte Spermatheken aufweisen. Nun liegt die Arbeit von NEWBY (1942) über *Drosophila virilis* vor. Der innere weibliche Geschlechtsapparat von *D. virilis* unterscheidet sich im wesentlichen von dem der *D. melanogaster* durch das ventrale Receptaculum. Lage und Form der Spermatheken sowie der Parovarien sind weitgehend übereinstimmend. Nach den Angaben NEWBYS ist ihre Entwicklung bei *D. virilis* gleich wie in *melanogaster*, abgesehen von zeitlichen Differenzen. Die sicher merkwürdige Rotation mußte doch, wenn sie auch bei *D. virilis* vor sich geht, auffallen. NEWBY beschreibt aber eine paarige Spermathekenanlage bei dieser Spezies am 7. Tage der Entwicklung. Sollte wirklich *D. virilis* darin so stark von *D. melanogaster*, wo primär eine unpaare Anlage vorhanden ist, abweichen, um in der Imagoform doch das gleiche Ausbildungsmuster aufzuweisen? Dies wäre eine merkwürdige Konvergenzerscheinung. Eine kritische Überprüfung der Zeichnungen NEWBYS zeigt aber entscheidende Irrtümer in ihrer Deutung durch den Verfasser: So trifft ein etwas schief gelegter Querschnitt durch die Genitalscheibe die auch bei *D. virilis* unpaare Spermathekenanlage (S. 124, Fig. 14a). Das nur einseitig angeschnittene Parovarienprimordium links deutet NEWBY nun als zweite Spermathekenanlage. In der Folge sucht der Verfasser die Parovarienanlage und glaubt sie im eigentlichen Oviduktprimordium zu erkennen. Dieser offensichtliche Fehler wiederholt sich in Fig. 13b und 14b. Die Oviduktanlage fällt nach seiner Deutung mit der Spermathekenanlage zusammen, was zum vornherein unmöglich scheint. In Fig. 15 ist die vermutliche Uterustasche als Parovarienprimordium gedeutet. In Fig. 17 korrigiert sich der Verfasser selbst: Die Parovarien stehen, als solche bezeichnet, hinter den Spermatheken. Es wäre nun sehr wohl möglich, daß, durch diese Deutungsirrtümer verleitet, NEWBY eine sekundäre Verdoppelung der Spermathekenanlage, wie ich sie für *D. melanogaster* beschrieben habe, übersehen hat und damit auch ihre Drehung. Eine kritische Nachprüfung seines Schnittmaterials ist also erforderlich.

2. Die Morphogenese der getrennten *spt*-Spermatheken (Kümmerformen der Mutante).

Überblickt man die Entwicklung der Spermatheken, so fällt auf, daß in bezug auf diese Geschlechtsanhangsorgane der Stamm *spt* viel mehr Variationsmöglichkeiten hat als der Wildstamm. Läßt man beim *spt*-Typ die Zahl der Kapseln ganz außer acht, so variiert schon die Länge der freien Gang-Enden im Verhältnis zum gemeinsamen Stück sehr stark. Der Fall ist nun sehr wohl denkbar, daß die Aufspaltung der Gänge so früh erfolgt, und damit die Zweigstelle so tief in der Uteruswandung liegt, daß sie äußerlich gar nicht zu erkennen ist. Die Spermatheken scheinen dann getrennt zu sein. Dieser Gedanke ist so naheliegend, daß es erstaunlich wäre, wenn solche Tiere nicht zu finden wären. Nun sind in den Kümmerzuchten (S. 112) unerwarteterweise getrennte Formen aufgetreten. Die Frage stellt sich, ob sie auf die angedeutete Entwicklung zurückzuführen sind.

Schon früher (Weitere modifizierende Umweltfaktoren S. 113) wurde darauf hingewiesen, daß jene Tiere aus den *spt*-Zuchten, die 2 oder 3 getrennte Spermatheken aufwiesen, wohl keine Wildtypen und keine Ausnahmeformen, hervorgerufen durch Verminderung der Penetranz, sind. Morphogenetische Untersuchungen können zeigen, daß diese „Ausnahmetiere“ phäno-genetisch nicht mit dem Wildtyp übereinstimmen.

Rein morphologische Beobachtungen:

1. Die Ausführgänge stehen bei diesen getrennten Formen bedeutend näher zusammen als bei den Fliegen des Wildgenotypus. Alle Übergänge von vollständiger Trennung bis zur Vereinigung unmittelbar vor der Eintrittsstelle in den Uterus sind zu finden.

2. Bei getrennten *spt*-Formen ist häufig eine Kapsel abnormal klein oder nicht chitiniert. Im Wildtyp unterscheiden sich die beiden Spermathekenkapseln selten voneinander oder dann nur sehr gering in der Größe.

3. Die getrennten Formen der *spt*-Mutante sind bei einer Entwicklungstemperatur von 28° C während der sensiblen Phase Zweier, in 18° aber Dreier. Bei diesen münden die 3 Gänge entweder getrennt in den Uterus, oder 2 vereinigen sich unmittelbar vor der Eintrittsstelle (Abb. 14 a und b).

Was für Ergebnisse zeigen nun die morphogenetischen Untersuchungen der getrennten Formen? Am eindrucklichsten mußte die Morphogenese der Dreierformen sein.

200 frischgeschlüpfte *spt*-Larven aus einem 2-Stunden-Gelege wurden auf sehr wenig Futter in 18° C eingesetzt. Ich fixierte 20 Weibchen aus dieser Zucht 30–36 Stunden nach der Pupa-rierung, was in der Zuchttemperatur von 25° C ungefähr dem 20–24stündigen Stadium entspricht. Die übrigen zog ich weiter und seziierte die geschlüpften Imagines. Die Sektion ergab die in Tabelle 10 angegebene Verteilung.

Die 20 geschnittenen Objekte gaben natürlich diese Verteilung nicht wieder, da aus der Morphogenese einer 24stündigen Puppe nicht unbedingt geschlossen werden kann, ob eine Einer- oder eine hohe Dreierspermatheke entsteht. Ferner war die Zahl der Schnittobjekte zu klein, als daß sie einer statistischen Auswertung genügen könnte.

Ergebnisse der morphogenetischen Untersuchung des Schnittmaterials:

1. Kein Objekt zeigt die Spermathekenanlage, wie sie bezeichnend ist für den Wildtyp, d. h. 2 übereinanderliegende Primordien, die nach 20–24 Stunden Puppenentwicklung erst leicht abgedreht wären.

2. Wenige Präparate weisen ein unpaares Spermathekenprimordium auf. Ob daraus ein Einer oder ein hoher Dreier entstanden wäre, läßt sich, wie schon erwähnt, nicht sagen.

Tabelle 10. *Spermatheken der spt-Kümmerformen und ihre Häufigkeit in der Zuchttemperatur von 18° C.*

Spermathekenformen			
			
2 = 2,9 %	21 = 30,9 %	30 = 44,1 %	15 = 22,1 %

Von Bedeutung sind aber jene Objekte, deren Spermathekenanlagen unmittelbar über oder sogar in der Uteruswandung aufspalten (Abb. 13 a, b und 14 a, b). Da die Puppen in 18° C aufgezogen wurden, müssen wir annehmen, daß in jenen Objekten, wo nur 2 Gänge zu sehen sind, sich im weiteren Verlauf der Morphogenese ein 3. Gang gebildet hätte. Ab und zu ist diese 2. Verästelung schon angedeutet (Abb. 13b).

3. Puppen, die in der frühen Spermathekenmorphogenese (bis zu 24 Stunden) derart tief aufgespaltene Anlagen haben, sind unter den in der Normaltemperatur gezogenen nie zu finden, obwohl dort auch Dreier vorkommen.

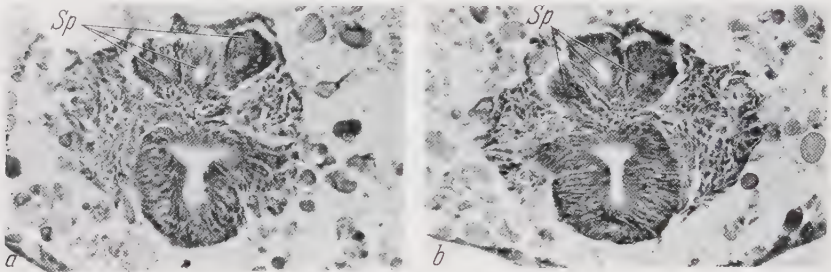


Abb. 13 a u. b. Querschnitte durch *spt*-Genitalscheiben nach 20 Stunden Puppenentwicklung. a Die Aufspaltung in 3 Gänge ist bereits vollzogen, ihre Vereinigung erfolgt in der Uteruswandung. b Der 3. Gang links hat noch kein Lumen, er wird vermutlich außerhalb der Uteruswandung abzweigen. Vergrößerung 310 ×.

Da in der Untersuchung der *spt*-Kümmerformen keine Beobachtung für den Typus der Wildspermatheken spricht, so muß man schließen, daß die getrennten Spermathekenformen des *spt*-Stammes auch nicht nach der Wildstammorphogenese gebildet werden. Alle Beobachtungen weisen demgegenüber darauf hin, daß sie so zustande kommen, wie es für den *spt*-Stamm beschrieben worden ist. Mit der Möglichkeit solcher *spt*-Tiere mußte gerechnet werden.

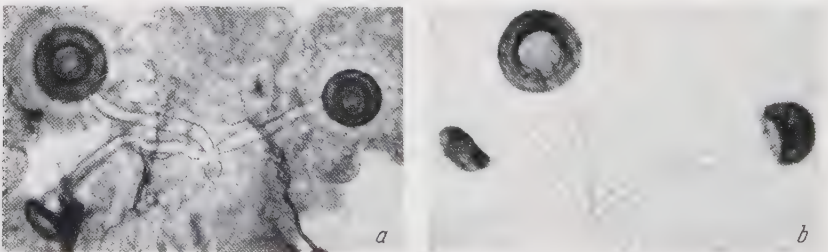


Abb. 14 a u. b. Die vermutlichen Imaginalformen der Spermatheken, die den Anlagen in Abb. 13 a bzw. Abb. 13 b entsprechen. Vergrößerung 160 ×.

Diese morphogenetischen Untersuchungen erfolgten an Larven, die in 18° C gezogen worden waren. In 28° C erscheinen keine Dreier, die etwas spätere Bildung eines 3. Kanales (Abb. 13b) unterleibt. Damit erklärt sich auch die Morphogenese der getrennten *spt*-Zweier, wie sie in dieser Zuchttemperatur bei Kümmerformen vorkommen.

Wir fassen zusammen:

1. Bei den getrennten Spermatheken der *spt*-Zuchten spricht nichts für eine Morphogenese nach dem Wildgenotypus. Sie sind folglich auch *keine echten Phänokopien zum Wildtyp*. Echte Phänokopien setzen nach HENKE (1941) voraus, daß sie den gleichen Entwicklungsgang aufweisen wie die kopierte Form.

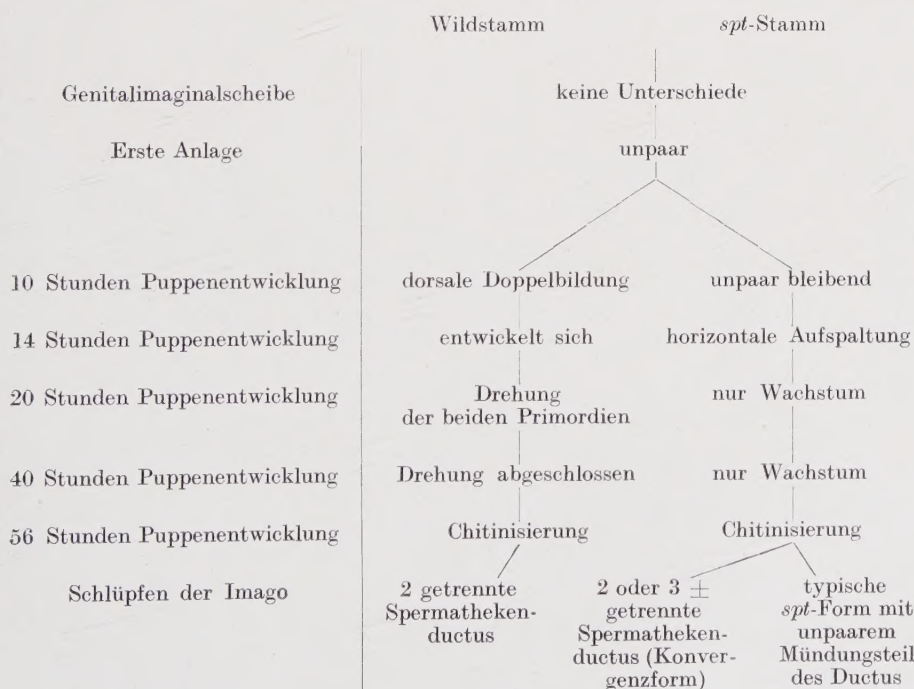
2. Die scheinbaren Ausnahmen sind *Konvergenzen zum Wildtyp*. Die getrennte Form der Spermatheken kann folglich auf einfachere Weise erreicht werden, als dies im Wildstamm geschieht. Auf diese bedeutungsvolle Folgerung soll im nächsten Abschnitt noch eingegangen werden (S. 132).

Die konvergente Entwicklung der beiden Phäne täuscht im *spt*-Stamm eine unvollständige Penetranz vor. Für mehrere Gene konnte bei *Drosophila* eine veränderte Manifestationshäufigkeit auf die Einwirkung von Modifikationsgenen zurückgeführt werden. Genische Modifikatoren des Faktors *spt* sind wohl auch nachgewiesen worden (S. 113), die für *spt* typische Entwicklung wird durch sie aber nicht abgeändert.

3. Diskussion.

Aus der Genitalanlage der *Mutante spt* wächst median-dorsal unter normalen Bedingungen eine *unpaare Spermatheke* aus, die sich am distalen Ende zu höchstens 3 Gängen verzweigen kann. Unter schlechten Futterbedingungen, am häufigsten bei 18°, kann die Verzweigung schon so tief einsetzen, daß Paarigkeit der Anlage vorgetäuscht wird. In der *Wildform* bildet sich median-dorsal ein ursprünglich *unpaares Primordium*, aus dem sich Zellen zu einem sekundären, über ihm liegenden abspalten. Durch eine gering schraubende Drehung von 90° kommen die beiden äußerlich getrennten Spermatheken nebeneinander auf gleiche Höhe zu liegen (s. Tabelle 11).

Tabelle 11. Zusammenfassende, vergleichende Darstellung der Spermathekenmorphogenese des Wildstammes und des *spt*-Stammes.



Diese eigenartige Entwicklungsverschiedenheit und ihre mögliche Konvergenz hat sicher eine phylogenetische Bedeutung. Unsere Schlüsse in dieser Hinsicht können aber nur hypothetischer Art sein.

Der *spt*-Genotypus vermag den Konvergenzphänotypus auf einfachere Weise zu realisieren als dies beim Wildtyp geschieht. Es ist nun wohl denkbar, daß die *Mutante spt* der primäre Typus wäre und durch eine Rückmutation vom Wildtyp her zu einer Urform erhalten wurde, die sich bei den *Drosophilinae* nicht mehr findet.

Sowohl der Wildtyp wie der *spt*-Mutantentyp haben unter den *Acalypterae* der Dipteren Vertreter. STURTEVANT (1925) wies auf die Bedeutung des Geschlechtsapparates dieser Diptereengruppe für die Systematik hin. Er prüfte die bestehenden Klassifikationen, besonders auf Grund der Samenrezeptakel — auch des ventralen — der Weibchen. Er fand dabei folgende Spermathekenformen:

Zwei getrennte gleiche Spermatheken bei: *Chaetopsis apicalis*, *Straussia longipennis*, *Drosophila alle* Spezies.

Eine einfache und davon getrennt eine Doppelspermatheke bei: *Sphyracephala brevicornis*, *Aulacigaster leucopeza*, *Minettia lupulina*.

Eine in 2 oder 3 Äste aufgeteilte Spermatheke bei: *Sphyroperiscelis wheeleri*, *Periscelis annulata*, *Seria pectinata*.

Die Wildtypspermatheken der 1. Gruppe variieren nach den Angaben STURTEVANTS wenig, wie das die *Drosophilinae* zeigen. Der *spt*-Typ, der in der 2. und 3. Gruppe zum Ausdruck kommt, scheint weiter verbreitet zu sein, und zwar in allen Variationen, die bei unserer Mutante durch Temperatur- und Ernährungseinflüsse hervorgerufen werden können. Darin findet die Annahme, daß er der ursprünglichere Typ sei, eine gewisse Stütze. Es darf daher angenommen werden, daß die *Acalypterae* der 2. Gruppe einer Primitivform am nächsten stehen. Aus einer ihrer Spezies könnte durch einen Mutationschritt (entsprechend einem hypothetischen Schritt von *spt* zu +) die 1. Gruppe entstanden sein. Durch Mutationen, die sich ähnlich wie veränderte Futter- oder Temperaturbedingungen beim *spt*-Typ auswirken, mag die 2. Gruppe von der 3. abgespalten worden sein.

Die Aufgabe stellt sich hier, die Morphogenese der Spermatheken in den verschiedenen Gruppen zu untersuchen. *Aulacigaster leucopeza* in der 2. Gruppe ist sicher einer der interessantesten Fälle.

4. Die Drehung, ein „Rechts-Links-Problem“.

Die Drehung, wie sie in der Wildrasse das sekundäre Spermathekenprimordium um das primäre ausführt, erfolgt nach links oder nach rechts (S. 127 bei 20 Stunden). Es stellten sich die Fragen nach dem Häufigkeitsverhältnis der Rechts-Linksdrehung und nach der Vererbung dieser Asymmetrie.

Die erste war an Hand des bearbeiteten Schnittmaterials zu beantworten. Für die Auszählung waren aber nur Objekte von 20—50 Stunden Puppenalter zu verwerten. Vor dem Entwicklungsstand von 20 Stunden ist die Drehung noch nicht eindeutig nachweisbar; nach 50 Stunden Entwicklungszeit aber

sind die beiden Spermathekenkanäle auf gleicher Höhe, die Bewegung also abgeschlossen. Nur an ihrer Einmündungsstelle in den Ovidukt-Uterus ist die zweite erwähnte Rotation in diesem Zeitpunkt noch erkennbar und damit die ursprüngliche Lage der beiden Primordien. So blieben für die Untersuchung nur 67 Objekte. Diese Zahl ist nach LUDWIG (1936) zwar nicht hinreichend für die Klassifikation des R-L-Verhältnisses. *Doch deutet das Ergebnis von 31 r : 36 l immerhin eine 1:1-Verteilung an.* Sicher ist die Asymmetrie, die in der Rotation zum Ausdruck kommt, eine echte, da es keine Übergänge zwischen den beiden Formen gibt. LUDWIG bezeichnet die vorliegende Asymmetrie als *razemisch*: R- und L-Form sind gleich häufig.

Die Frage nach der Vererbung des R- oder L-Merkmals konnte mit diesem Material gar nicht gelöst werden. Erstens stammten die Objekte nicht vom gleichen Elternpaar, zweitens könnte über den Vererbungsmodus auch nur entschieden werden nach der Untersuchung der F₁- und F₂-Generationen. Dies ist in unserem Falle unmöglich, lassen doch die Imagines nicht erkennen, wie sich die Spermathekenprimordien gedreht haben. Es ist anzunehmen, daß in der Genitalimaginalscheibe sowohl eine R- als auch eine L-Tendenz vorhanden ist. Es besteht somit eine alternative Entwicklungsmöglichkeit, wie das LUDWIG für die Regeneration von Gliedmaßen bei den heterochelen Krebsen annimmt. Im Entwicklungsverlauf würde dann jene Seite der Anlage die Drehung einleiten, die das für das weitere Wachstum nötige Agens in größerer Quantität enthielte. Ist diese Quantität proportional der Zellenzahl, so muß eine rascher erfolgte Zellteilung einer Seite zu deren Übergewicht führen.

Die Untersuchungsergebnisse können aber nicht mehr sein als weiteres Material zum Rechts-Links-Problem.

Zusammenfassung.

Unsere Arbeit hatte zum Ausgangspunkt den Faktor *spt*, der sich an den Spermatheken der Weibchen von *Drosophila melanogaster* auswirkt. Die genetische Analyse erwies sich als sehr komplex und konnte deshalb nicht restlos durchgeführt werden. Es zeigte sich, daß der Phänotypus der veränderten Spermatheken durch das Zusammenwirken verschiedener innerer und äußerer Faktoren realisiert wird. Das Problem der genischen Modifikatoren muß außerhalb des Rahmens dieser Arbeit gelöst werden.

Ergebnisse.

1. Von der Mutante *spt* (HADORN und GRABER 1944) bei *D. melanogaster* wurde durch Auskreuzen mit einem Wildstamm ein neuer Stamm *spt/spt* mit guter Vitalität gezüchtet.

2. Das Merkmal ist rezessiv und geschlechtsbegrenzt. Seine Penetranz ist 100%. Pleiotrope Auswirkungen der Mutation konnten nicht nachgewiesen werden.

3. Das Merkmal des *unpaaren* Spermathekenductus ist durch *einen Faktor* des 2. Chromosoms bedingt. Sein Locus wurde mit $63,3 \pm$ berechnet.

4. Die *Temperatur modifiziert* den Phänotypus in dem Sinne, daß sich am unpaaren Gang 1 oder 2 oder 3 Kapseln entwickeln.

5. Die Zusammensetzung des Larvenfutters kann die Gangaufspaltung so beeinflussen, daß sich die Spermathekenkanäle getrennt entwickeln und so der Wildtyp vorgetäuscht wird.

6. Wird der Faktor *spt* in verschiedene Stämme eingekreuzt, so zeigen sich veränderte Temperaturreaktionen. *Genische Modifikatoren* wirken auf die Reaktionsnorm des Hauptgens *spt* ein.

7. Die *temperaturesensible Phase* in der Reaktionskette der Faktorenkombination des neuen Stammes *spt* wird ermittelt. Sie dauert in einer Zuchttemperatur von 25—28° C etwa 24 Stunden und schließt in jeder Zuchttemperatur vor der *Puparisierung* ab.

8. Die imaginalen Spermathekenanlagen der Mutante *spt* wie des Wildtyps entwickeln sich nach Transplantation in einem anderen Wirtsmilieu *autonom*.

9. Die Anlagen sind in der Mutante *spt* wie im Wildtyp *unpaar*. Während sich aber *spt* weiter unpaar entwickelt, entsteht im Wildtyp eine *sekundäre Anlage* über der unpaaren.

10. Nach einer *Drehung* des sekundären Primordiums um das primäre liegen schließlich beim Wildtyp die beiden getrennten Spermathekenmündungen nebeneinander in der Horizontalebene. Bei der Mutante *spt* erfolgt während der Entwicklung keine Drehung, sondern eine *distale Gangaufspaltung*.

11. Diese Aufspaltung des *spt*-Primordiums kann aber unter besonderen Futter- und Temperaturbedingungen so tief einsetzen, daß äußerlich 2 oder 3 getrennte Spermathekenkanäle entstehen. Die getrennten *spt*-Zweierspermatheken sind also *Konvergenzen* zum Wildtyp.

12. Eine zahlenmäßige Untersuchung der unter 10. erwähnten Drehung ergab eine ähnliche Häufigkeit der *Rechts- und Linksdrehung*. Eine *razemische Asymmetrie* ist wahrscheinlich.

Literatur.

- BEADLE, G. W.: A possible influence of the spindle-fiber on crossing-over in *Drosophila*. Proc. nat. Acad. Sci. 18 (1932). — CHEN, TSE-YIN: On the development of imaginal buds in normal and mutant *Drosophila melanogaster*. J. Morph. (Am.) 47 (1929). — DOBZHANSKY, TH.: Über den Bau des Geschlechtsapparates einiger Mutanten von *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 34 (1924). — Studies on the intersexes and supersexes in *Drosophila melanogaster*. Bull. Bureau Genetics 8 (1930). — EHRHARDT, B., and G. W. BEADLE: A technique of transplantation for *Drosophila*. Amer. Natural. 70 (1936). — GLEICHHAUF, R.: Anatomie und Variabilität des Geschlechtsapparates von *Drosophila melanogaster*. Z. Zool. 148 (1936). — GLOOR, H.: Phänotypie einer Letalmutante (*crc*) von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. 51 (1944). — GOLDSCHMIDT, R.: Physiological Genetics. New York 1938. — HADORN, E.: Genetische und entwicklungsphysiologische Probleme der Insektenontogenese. Fol. Biotheoretica 1948, Nr 3. — HADORN, E., u. H. GRABER: Über einen *Drosophila*-Stamm mit veränderten Spermatheken. Rev. suisse Zool. 51 (1944). — HADORN, E., u. H. GLOOR: Transplantation zur Bestimmung des Anlage-musters in der weiblichen Genitalimaginalscheibe von *Drosophila*. Rev. suisse Zool. 53 (1946). — HENKE, K., u. E. v. FINCK: Über sensible Perioden für die Auslösung von Hitze-modifikationen bei *Drosophila* und die Beziehungen zwischen Modifikationen und Mutationen. Z. Vererbungslehre 79 (1941). — LUDWIG, W.: Bestimmung und Vererbung der Asymmetrieform. (R-L-Problem). Zool. Anz. Suppl. 9 (1936). — Untersuchungen zum Gesetz des Crossing-over. Z. Vererbungslehre 69 (1935). — MATHER, K.: Crossing-over and heterochromatin and spindle-fiber. Genetics 24 (1939). — NEWBY, W. W.: A study